A light blue line drawing of the main building of the University of Paraná, featuring a large portico with many columns and a pediment. The text "UNIVERSIDADE DO PARANÁ" is visible on the pediment.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA

STEPHANIE RUBIANNE SILVA CARVALHAL

**A INTENSIDADE DO EXERCÍCIO PRÉVIO INFLUENCIA NA
DEGENERAÇÃO MUSCULAR EM INDIVÍDUOS SUBMETIDOS À LESÃO
MEDULAR?**

CURITIBA
2017

STEPHANIE RUBIANNE SILVA CARVALHAL

**A INTENSIDADE DO EXERCÍCIO PRÉVIO INFLUENCIA NA
DEGENERAÇÃO MUSCULAR EM INDIVÍDUOS SUBMETIDOS À LESÃO
MEDULAR?**

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau de Mestre em Fisiologia no Curso de
Pós Graduação em Fisiologia, Setor de Ciências
Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antônio Tanhoffer.
Coorientador: Prof. Dr^a. Katya Naliwaiko

CURITIBA
2017



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Departamento de Fisiologia
Programa de Pós-Graduação em Fisiologia



PARECER

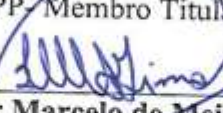
Os abaixo-assinados, membros da Banca Examinadora da Defesa de Dissertação de Mestrado, a qual se submeteu **STEPHANIE RUBIANNE SILVA CARVALHAL** para fins de obter o título de Mestre em Fisiologia pela Universidade Federal do Paraná, são de parecer unânime à aprovação da acadêmica.

A obtenção do título está condicionada à implementação das correções sugeridas pelos membros da banca examinadora e ao cumprimento integral das exigências estabelecidas no Regimento interno deste Programa de Pós-Graduação.

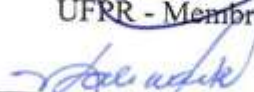
Curitiba, 29 de setembro de dois mil e dezessete.



Professor Doutor Sandro José Ribeiro Bonatto
IPPP - Membro Titular



Professor Doutor Marcelo de Meira Santos Lima
UFPR - Membro Titular



Professora Doutora Katya Naliwaiko
UFPR – Coorientadora e Presidente da Banca Examinadora

Este trabalho é dedicado aqueles que amo, que me incentivaram desde o início e que despertam o melhor em mim: meus preciosos pais, Wesley e Célia, meu amado esposo, Thomas Carvalhal, ao meu querido irmão, Matheus, e aos meus estimados mestres e amigos , Rica e Aldre.

AGRADECIMENTOS

A Deus, Criador de todas as coisas, por me permitir realizar este mestrado, por me dar determinação para permanecer inabalável diante das adversidades, por sempre me dar incontestáveis sinais de Sua presença e por me ajudar a enxergar a ciência como uma forma de louvor.

A meu pai Wesley Roberto, por ser o meu referencial em tudo. Sem seu amor incondicional e sabedoria eu jamais seria quem sou. Você sempre será o primeiro homem da minha vida, o homem que me ensinou a definição de família, a pessoa que me mostrou um mundo visto sob lentes cor de rosa e fuscas coloridos.

A minha mãe Célia Maria, minha eterna “*Sarah Connor*”. Seus preciosos ensinamentos, seu exemplo de força e seu amor inexplicável fojaram o meu caráter. Certamente eu não teria conseguido chegar até aqui seu apoio. Amo você!

A meu marido Thomas Carvalhal, luz da minha vida. Sua paciência, suporte e compreensão foram essenciais durante todo este caminho. Nos momentos mais desesperadores você enxugou minhas lágrimas e ficou ao meu lado. Nem mesmo o dia mais claro se compara ao brilho dos seus olhos azuis ao me dizer “Calma, eu estou aqui com você!”. Obrigada por me amar tanto (até mesmo em épocas de experimentos!) e por ser esse homem fantástico que torna os meus dias mais felizes.

Ao meu irmão Matheus por sempre ser meu aliado em minhas intrépidas aventuras científicas e me fazer perceber como é maravilhoso ter e ser irmão. Eu te amo muito, muito, muito!

Ao meu orientador e amigo Ricardo Tanhoffer, pela sua dedicação, excelência, parceria, confiança e exemplo. Sua perseverança me inspira e me incentiva a ir muito mais além. Muito obrigada por tudo, mas principalmente, pela sua inestimável amizade.

A minha querida Aldre Tanhoffer (minha “flor de aço”), pelo bom humor durante incontáveis horas de cirurgia e pós-cirúrgico, pelos momentos de “bagunça”, por ter esse coração enorme onde sempre cabe mais um e por me emprestar seu ombro e ouvidos nos momentos de dificuldade. Te admiro imensamente!

A minha coorientadora, Professora Katya Naliwaico, pela prestreza e zelo que sempre demonstrou para com os alunos. Seu conhecimento e dedicação forneceram

características únicas a este trabalho. Tem sido um privilégio aprender com você! Espero transmitir aos meus alunos um pouco do amor ao ensino que você transmite ao me ensinar.

Ao Professor Luiz Claudio Fernandes, por ter dado a oportunidade de ser aluna de seu laboratório, tornando a UFPR não apenas uma universidade, mas um segundo lar para mim.

A Professora Fabíola Iagher, pela sua indescritível habilidade de nos “carregar no colo” quando não vemos uma saída, principalmente quando derrubamos todos os ensaios de macrófagos após um árduo dia experimento. Obrigada pela sua paciência, tranquilidade e por sempre ter uma palavra de consolo durante as desventuras acadêmicas.

Aos meus colegas do LabMetab: Andressa (“rainha das suturas”), Juliana Godoy (Xuuuliena), Camila, Larisson, Igor, Jhonny, Malu, Débora, Débora Luana, Stezinha, Professora Márcia, Bruna, Alana e a todos que tenham contribuído de alguma forma para esse trabalho.

“Somos assim: sonhamos o voo, mas tememos a altura. Para voar é preciso ter coragem para enfrentar o terror do vazio. Porque é só no vazio que o voo acontece. O vazio é o espaço da liberdade, a ausência de certezas. Mas é isso o que tememos: o não ter certezas. Por isso trocamos o voo por gaiolas. As gaiolas são o lugar onde as certezas moram.”

(Fiódor Dostoiévski)

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	10
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE TABELAS	14
RESUMO	15
ABSTRACT.....	17
1 INTRODUÇÃO	19
2 REFERÊNCIAL TEÓRICO.....	21
2.1 LESÃO MEDULAR	21
2.1.1 Definição	21
2.1.2 Etiologia	21
2.1.3 Classificação	24
2.1.4 Fisiopatologia da lesão medular.....	27
2.1.5 Intervenções clínicas.....	33
2.1.6 Comorbidades prognósticas musculoesquelética relacionadas à lesão medular	35
2.3 ATIVIDADE FÍSICA	38
2.3.1 Atividade física em diferentes intensidades	42
2.3.2 Plasticidade musculoesquelética e exercício físico	43
2.3.3 Respostas celulares ocasionadas pelo exercício físico.....	46
2.3.4 Lesão muscular e cicatrização	48
2.3.5 Lesão medular e hipotrofia muscular	50
3 JUSTIFICATIVA.....	53
4 OBJETIVOS.....	54
4.1 Objetivo Geral.....	54
4.2 Objetivos Específicos.....	54
5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	55
5.1 Condições Experimentais	55

5.1.1 Animais	55
5.1.2 Modelo e delineamento experimental.....	55
5.1.3 Protocolo de Exercício Físico	57
5.1.4 Protocolo Cirúrgico.....	58
5.1.5 Pesagem Corporal	60
5.2 Avaliação Motora	60
5.3 Peso do músculo sóleo.....	62
5.4 Histologia Muscular	62
5.5 Análise estatística	62
6 RESULTADOS.....	64
6.1 ANÁLISE MOTORA.....	64
6.2 ANÁLISE MORFOLÓGICA.....	65
6.2.1 Variação de Massa Corporal.....	65
6.2.2 Massa Muscular Úmida.....	65
6.2.3 Análise morfométrica do músculo sóleo.....	67
7 DISCUSSÃO.....	75
8 CONCLUSÃO.....	84
9 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	85
Anexo 1.....	101

LISTA DE ABREVIATURAS

AF - Atividade física

AST - Área de secção transversal

ATLS - Advanced Trauma Life Support

BBB - Basso-Beattie-Bresnahan

BHE - Barreira hematoencefálica

C - Controle

C1 - Referente à vértebra cervical (ex. C1 - primeira vértebra cervical)

C2 - Referente à vértebra cervical (ex. C2 – segunda vértebra cervical)

C4 - Referente à vértebra cervical (ex. C4 - quarta vértebra cervical)

C5 - Referente à vértebra cervical (ex. C5 - quinta vértebra cervical)

C6 - Referente à vértebra cervical (ex. C6 - sexta vértebra cervical)

C7 - Referente à vértebra cervical (ex. C7 - sétima vértebra cervical)

CEUA - Comitê de Ética no Uso de Animais

CI – Controle exercitado intensamente

cm - Centímetro

CM – Controle exercitado moderadamente

DCNT - Doenças crônicas não transmissíveis

DNA - Ácido desoxirribonucléico

EDL - Extensor londo dos dedos

EENM - Estimulação elétrica neuromuscular

EROS - Espécies reativas de oxigênio

FCF - Fatores de crescimento de fibroblastos

g – Gramas

GM1 - Gangliosídeos

HMC - Cadeia Pesada de Miosina

i.p. – Intraperitoneal

Kg - Quilograma

L - Lesado

L1 - Referente à vértebra lombar (ex. L1 - primeira vértebra lombar)

L2 - Referente à vértebra lombar (ex. L2 - segunda vértebra lombar)

L5 - Referente à vértebra lombar (ex. L5 - quinta vértebra lombar)

LI – Lesado exercitado intensamente

LM – Lesado exercitado moderadamente

MASCIS - Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study

MEC – Matriz extra celular

mg - Miligrama

mL -Miliitros

NSCICS - National Spinal Cord Injury Statistical Center

PLM - Pessoas com lesão medular

PVPI -Polivinil pirrolidona iodo

RNA_m - Ácido ribonucleico mensagiro

S1 - Referente à vértebra sacral (ex. S1 - primeira vértebra sacral)

S5 - Referente à vértebra sacral (ex. S5 - quinta vértebra sacral)

T1 - Referente à vértebra torácica (ex. T1 – primeira vértebra torácica)

T11 - Referente à vértebra torácica (ex. T11 – décima primeira vértebra torácica)

T12 - Referente à vértebra torácica (ex. T12 – décima segunda vértebratorácica)

T2 - Referente à vértebra torácica (ex. T2 – segunda vértebra torácica)

T6 - Referente à vértebra torácica (ex. T6 - sexta vértebra torácica)

T7 - Referente à vértebra torácica (ex. T7 - sétima vértebra torácica)

UFPR – Universidade Federal do Paraná

μM – Micrometro

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Principais causas de lesões medulares traumáticas.....	22
FIGURA 2 - Nível neurológico e extensão da lesão.....	24
FIGURA 3 - Disfunções associadas à lesão medular.....	27
FIGURA 4 - Perda tecidual em modelos de lesão medular.....	31
FIGURA 5 - Modelo de lesão medular.....	32
FIGURA 6 - Eventos cíclicos envolvidos na síndrome da inatividade física descrito por Pedersen em 2009.....	40
FIGURA 7 - Adaptações moleculares agudas e crônicas do músculo esquelético ao exercício físico.....	45
FIGURA 8 - Crescimento da fibra muscular: alongamento, hipertrofia e hiperplasia.....	47
FIGURA 9 - Ilustração representativa da relação bidirecional estabelecida entre a síntese e degradação proteica.....	51
FIGURA 10 – Fluxograma de identificação dos grupos experimentais.....	56
FIGURA 11 – Ilustração do delineamento e organização dos procedimentos seguidos durante o experimento.....	56
FIGURA 12 - Ilustração esquemática representando a modalidade de natação com carga em colete.....	58
FIGURA 13 - Protocolo cirúrgico prévio à técnica de <i>weight drop</i> pelo aparelho <i>NYU Imactor</i>	59
FIGURA 14 - Medula espinhal após 7 dias de lesão por contusão.....	61
FIGURA 15 - Medula espinhal lesionada após 7 dias de lesão por contusão.....	61
FIGURA 16 - Presença de movimentos dos membros posteriores em animais submetidos a lesão medular e avaliados pela escala BBB.....	64
FIGURA 17 - Gráfico representativo da variação de massa corporal dos grupos ao longo dos treinos e após a lesão medula.....	65
FIGURA 18 - Análise do peso úmido do músculo sóleo.....	66
FIGURA 19 - Gráfico demonstrativo da área de secção transversal das fibras musculares (sóleo).....	67
FIGURA 20 - Gráfico comparativo da área de secção transversal das miofibras entre grupos controle e operado.....	68

FIGURA 21 - Gráfico demosntrativo da área de secção transversal do músculo sóleo.....	69
FIGURA 22 - Imagens das fotomicrografias das miofibras dos grupos controles e dos grupos operados.....	72
FIGURA 23 - Gráfico respresentativo do número de fibras contadas em aumento de 50x.....	73
FIGURA 24 – Cálculo utilizado para estimar o número total de fibras do músculo sóleo.....	74

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Classificação básica dos tipos de fibras musculares esqueléticas	36
TABELA 2 – Propriedades das unidades motoras.....	37
TABELA 3 – Estimativa do número de fibras contidas na AST_{mc} e número de fibras por μm^2	74

RESUMO

A lesão medular é um dramático e agressivo evento que resulta em uma síndrome neurológica altamente incapacitante que pode comprometer a funcionalidade motora, sensitiva e autonômica. Dentre as consequências motoras, a lesão medular compromete o funcionamento do sistema musculoesquelético através da instauração de um estado hipotrófico observados já nos primeiros dias após a injúria. Embora não haja tratamentos eficientes para impedir as modificações fisiológicas inerentes a hipotrofia após a lesão medular, um dos recentes métodos intervencionistas pós-lesão medular tem avaliado o uso dos exercícios físicos em diferentes intensidades para a promoção da reabilitação e preservação de habilidades motoras. Contudo, na literatura não há informações sobre algum possível efeito protetor do exercício físico se executado de forma regular pré – lesão medular. O objetivo deste trabalho foi verificar, através de uma abordagem precoce, se a prática de exercícios (de intensidade moderada e intensa) exerce efeito benéfico sob parâmetros tissular e morfológico em um quadro agudo de lesão medular, prevenindo ou reduzindo o acometimento pela hipotrofia muscular. Os animais foram previamente divididos segundo a variável de intensidade de exercício físico (sedentário, exercício moderado com 2% de carga e exercício intenso com 6% de carga). Após treze sessões de exercício (natação) intervalados por 72 horas de descanso entre cada sessão, os animais referentes aos grupos lesados medulares foram submetidos ao procedimento de laminectomia da 9ª a 11ª vértebra torácica, seguidamente da contusão medular (T10) pelo emprego do aparelho *NYU Impactor*. Estes grupos foram ortotansados no 7º dia pós-lesão medular. De modo semelhante, os animais referentes aos grupos controles (hígidos) também foram ortotansados simultaneamente aos animais lesados. Dados morfométricos foram obtidos e o músculo sóleo foi delicadamente coletado para análise histológica. Após 48 horas da lesão medular houve a redução da massa corpórea em 10% para os grupos lesados. Em 7 dias após a lesão medular foi possível observar redução da massa muscular em todos os grupos lesados (6 à 11%), independente do método intervencionista empregado anteriormente à cirurgia. Ademais, o diâmetro do músculo sóleo para os grupos exercitados intensamente apresentaram um decréscimo de 47% para CI e 34% para LI quando comparado aos animais não exercitados. Semelhantemente, as fibras musculares dos animais exercitados intensamente demonstraram diâmetro reduzido e intensa infiltração de colágeno nas regiões do endomísio e perimísio em comparação aos animais sedentários. Contrariamente, o grupo CM exibiu aumento significativo ($p < 0,005$) do diâmetro da fibra, assim como o grupo LM demonstrou diferença significativa ($p < 0,001$) em relação aos valores de AST obtidos do grupo LI, sugerindo que após a lesão medular animais exercitados de maneira moderada tiveram menor perda proteica. Corroborando com essas informações, os animais exercitados moderadamente parecem ter menor quantidade de colágeno quando comparados aos animais exercitados de forma intensa. Assim sendo, conclui-se que a intensidade do exercício físico exerce efeitos distintos no tecido muscular, podendo contribuir para a preservação de massa magra em casos de imobilização e desuso, bem como pode exercer efeitos deletérios sobre as células musculares acelerando o processo hipotrófico e formação de tecido fibrótico. Evidentemente, é necessário levar em consideração fatores como tipo de fibras musculares avaliadas, duração e

intensidade do exercício físico desenvolvido e estado do organismo avaliado, visto que o comportamento muscular sofre alterações em condições patológicas.

PALAVRAS CHAVES: lesão medular, hipotrofia musculoesquelética, endurance, treino intervalado de alta intensidade (HIIT).

ABSTRACT

Spinal cord injury is a dramatic and aggressive event that results in a highly disabling neurological syndrome that can compromise motor, sensory, and autonomic function. Among the consequences of the motor, spinal cord injury compromises the functioning of the musculoskeletal system through the establishment of a hypotrophic state already observed in the first days after the injury. Although there are no efficient treatments to prevent the physiological changes inherent to hypotrophy after spinal cord injury, recent post-injury intervention methods have evaluated the use of physical exercises at different intensities for promoting rehabilitation and preservation of motor skills. However, in the literature there is no information on any possible protective effect of physical exercise if performed on a regular basis prior to spinal cord injury. The objective of this study was to verify, through an early approach, whether the practice of exercises (of moderate and intense intensity) exerts a beneficial effect under the tissue and morphological parameters in an acute condition of spinal cord injury, preventing or reducing the development of hypotrophy muscular. The animals were previously divided according to the intensity variable of the physical exercise (sedentary exercise, moderate with 2% of load and intense exercise with 6% of load). After 13 sessions of exercise (swimming) during 72 hours of rest between each session, the animals related to the injured groups of the spinal cord were submitted to laminectomy procedure of the 9th to 11th thoracic vertebrae, followed by spinal cord contusion (T10) using *NYU Impactor*. These groups were euthanized on the 7th day after spinal cord injury. In the same way, control animals (healthy) were also euthanized simultaneously to the injured animals. Morphometric data were obtained and the soleus muscle was gently collected for histological analysis. After 48 hours of spinal cord injury, the body mass was reduced by 10% for the injured groups. In the 7 days after the injury, it was possible to observe reduction of muscle mass in all the injured groups (6 to 11%), regardless of the intervention method used before surgery. In addition, the diameter of the soleus muscle for the intensely exercised groups showed a decrease of 47% for HF and 34% for LI when compared to non-exercised animals. Similarly, the muscle fibers of the intensely exercised animals presented reduced and intense diameter collagen infiltration in the regions of endomysium and perimysium compared to the sedentary animals. In contrast, the CM group showed a significant increase ($p < 0.005$) in the fiber diameter, since the LM group presented a significant difference ($p < 0.001$) in relation to the AST values obtained from the LI group, suggesting that after the spine the Physical cord injuries exercised animals moderately had less loss of protein. Corroborating with this information, moderately exercised animals appear to have less collagen when compared to intensively exercised animals. Therefore, it is concluded that the intensity of physical exercise exerts different effects on muscle tissue and can contribute to the preservation of lean mass in cases of immobilization and disuse, as well as may exert deleterious effects on muscle cells accelerating the process and formation hypotrophic fibrotic tissue. Obviously, it is necessary to take into account factors such as the type of muscle fibers evaluated, duration and intensity of the developed physical exercise and state of the organism evaluated, since the muscular behavior undergoes changes in the pathological conditions.

KEY WORDS: spinal cord injury, musculoskeletal hypotrophy, resistance, high intensity interval training (HIIT).

1 INTRODUÇÃO

A lesão medular (LM) é um dramático e agressivo evento que resulta em uma síndrome neurológica altamente incapacitante que pode comprometer a funcionalidade motora, sensitiva e autonômica que por sua vez pode levar a diferentes danos funcionais sistêmicos (HULSEBOSCH, 2002; NINDS, 2014). Esses danos são chamados de comorbidades prognósticas, ou seja, ao ser acometido pela lesão medular, o indivíduo torna-se suscetível à outras patologias em razão dos efeitos deletérios sistêmicos gerados pela neuroinflamação, injúria tissular e pela interrupção das funções motoras e sensitivas (DORNELLES SCHOELLER et al., 2016, FORNER, 2015; MS, 2013; TANHOFFER et al., 2007). Dentre as consequências motoras, a LM compromete severamente o funcionamento do sistema musculoesquelético, bem como a associação deste com o sistema sensitivo. Em nível muscular, modificações estruturais, orgânicas e metabólicas podem ser obeservadas já nos primeiro primeiros dias após a injúria medular, através de sinais clássicos de hipotrofia musculoesquelética (HUTCHINSON, LINDERMAN, & BASSO, 2001; LIEBER, 2009).

A hipotrofia é uma condição caracterida pela perda de massa e redução da capacidade muscular, desencadeando um perfil funcional e morfológico peculiar, como redução dos sarcômeros em série, redução da área da secção transversal da fibra e das proteínas que a compõem, diminuição da força e da resistência à fadiga, aumento da resistência insulínica e decréscimo da densidade capilar. A diminuição da tensão de carga imposta naturalmente sobre a musculatura gera um desequilíbrio entre a síntese e degradação proteica. Com o desuso muscular, ocorre o favorecimento da proteólise e da taxa degradativa e, conseqüentemente, redução da síntese proteica. Infelizmente ainda não há tratamentos eficientes para prevenir as alterações fisiológicas inerentes a hipotrofia muscular (BOSI et al., 2008; DURIGAN et al., 2006; MACHADO et al., 2009).

Semelhantemente, pessoas com lesão medular não dispõem de tratamentos eficazes, de modo que as intervenções clínicas vigentes resume-se em realizar a estabilização da coluna vertebral, reestabelecer o alinhamento, descomprimir o canal medular e utilização de altas dosagens de fármacos anti-inflamatórios esteroidais, como metilprednisolona, que são administrados até 8 horas após a injúria (ABUL-

KASIM; K. STRÖMBCK; SUNDGREN, 2010; BYDON et al., 2014; CARVALHO, 2007; COX et al., 2015).

Em virtude da progressão tecnológica e científica ao longo do tempo, abordagens terapêuticas foram aperfeiçoadas a fim de garantir a qualidade de vida do indivíduo após a lesão medular, resultando no aumento da longevidade dessa população. Sendo assim, um dos recentes métodos intervencionistas pós-lesão medular tem avaliado o uso de exercícios físicos em diferentes intensidades. O exercício físico orientado visando a reabilitação tem demonstrado resultados benéficos no que concerne a preservação de habilidades motoras, reintegração social e prevenção de comorbidades associadas à lesão medular (GILLISON, SKEVINGTON, SATO, STANDAGE, & EVANGELIDOU, 2009; HUTCHINSON, GÓMEZ-PINILLA, CROWE, YING, & BASSO, 2004; NETO & GENTIL, 2011; POSSAMAI, SIEPKO, & ANDRÉ, 2010). Entretanto, na literatura apenas encontra-se dados sobre os efeitos pós-lesão, não havendo nenhuma informação sobre algum possível efeito protetor da atividade física (AF) se executada de forma regular pré-lesão.

Devido a todas as vantagens relacionadas à prática regular do exercício físico, e em atenção a ausência de informações científicas sobre exercícios realizados de modo antecipado à episódios de lesão medular aguda, o presente estudo visa avaliar os efeitos morfológicos sobre o tecido musculoesquelético de ratos previamente exercitados em diferentes intensidades, após o trauma raquimedular.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 LESÃO MEDULAR

2.1.1 Definição

A lesão medular é a minimização ou ausência da funcionalidade motora, sensitivas e/ou autonômicas decorrentes de danos às estruturas inclusas no canal medular (tecido nervoso medular e seus componentes), interrompendo, total ou parcialmente, a condutibilidade de sinais nos segmentos da medula abaixo da injúria. Tais modificações externalizam-se sob forma de paralisia ou paresia – perda parcial da motricidade – dos membros, alteração de tônus muscular e de reflexos superficiais e/ou profundos, modificação ou perda de sensibilidade tátil, proprioceptiva e dolorosa, disfunções autonômicas como controle de temperatura, sudorese entre outras (BATTAGLINO; LAZZARI, 2013; CASTELLANI; ARMSTRONG et al., 2001; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013; NUNES et al., 2017; SILVA et al., 2014). Adicionalmente, pessoas com lesão medular (PLM) desenvolvem uma sequência de distúrbios fisiopatológicos secundários, como: disreflexia autonômica, ausência de controle esfíncteriano, imunossupressão, osteoporose, disfunções neuroendócrinas e alterações metabólicas que por sua vez tendem a culminar em obesidade, cardiopatias, problemas vasculares, diabetes, intolerância ao exercício físico entre outras disfunções ou patologias (ADRIAANSEN et al., 2016; ANDRADE & ARAUJO 2013; BATTAGLINO & LAZZARI, 2013; DORNELLES SCHOELLER et al., 2016, HORN et al., 2013; HULSEBOSCH, 2002; NASCIMENTO & SILVA 2007; NOREMBERG, 2004; TANHOFFER et al., 2007).

2.1.2 Etiologia

Etiologicamente, a lesão medular é classificada em lesões não-traumáticas e traumáticas. Lesões não-traumáticas são decorrentes de tumores intra- e extra-medular, fraturas patológicas (metástases vertebrais, tuberculose, osteomielite e osteoporose), estenose de canal medular, deformidades graves da coluna, hérnia

discal, isquemia (em especial associada a aneurismas de aorta), infecciosas (mielite transversa, paraparesia espástica tropical) e autoimunes (esclerose múltipla). Não existem dados precisos acerca da incidência de lesão medular decorrentes de eventos não-traumáticos, entretanto, estima-se que representem aproximadamente 20% de todos casos de lesão medular (ALMEIDA et al., 2013; DORNELLES et al., 2015; DORNELLES SCHOELLER et al., 2016; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

Em contrapartida, lesões traumáticas – correspondendo aos outros 80% dos casos - em sua maioria são resultantes de acidentes automobilísticos (38.4%), quedas (30.5%), eventos violentos urbanos (13.5%) e traumatismos esportivos (8.9%) (FIGURA 1) (DORNELLES SCHOELLER et al., 2015; FORNER et al., 2012; LEE et al., 2014; NSCICS, 2017), entretanto pode existir uma variabilidade em sua incidência por fatores regionais e sazonais.



FIGURA 1- Principais causas de lesões medulares traumáticas. Os acidentes automobilísticos são, atualmente, a principal causa de lesão medular, seguidas de quedas, atos de violência (principalmente ferimentos de balas) e atividades esportivas / recreativas (Adaptado de NSCISC, 2017).

Num panorama mundial, dados demográficos de 2013 apontaram a incidência global de casos de lesão medular entre 236 a 1.298 / milhão de habitantes, considerando que homens na faixa etária entre 30 e 40 anos de idade lideram as estatísticas. Entretanto, o número de casos de mulheres afetadas por lesões medulares vem aumentando gradativamente (FURLAN, 2013; LEE et al., 2014; NUNES et al., 2017).

O *National Spinal Cord Injury Statistical Center* (NSCICS) dos Estados Unidos da América (EUA) estima que exista em torno de 314 milhões de pessoas acometidas por lesões medulares, e que a incidência anual dessa patologia é de aproximadamente 54 casos por milhão de habitantes, aos quais se somam 17 mil novos casos/ano, atingindo predominantemente jovens adultos do sexo masculino (81% dos novos casos anuais) (NSCICS, 2017).

Por outro lado, no Brasil os dados relacionados à incidência de lesões medulares são imprecisos e insuficientes, posto que a grande maioria dos hospitais que recebem estes casos não contabilizam e/ou não divulgam valores numéricos. Contudo, baseado nas poucas estatísticas brasileiras disponíveis, esses referentes ao ano de 2010, o Consenso Brasileiro quantificou que 7% da população possuía algum grau de deficiência motora (amputados, paraplégicos, tetraplégicos, hemiplégicos e dificuldade de locomoção), atingindo o número aproximado de 1.400.000 (um milhão e quatrocentos mil) brasileiros com tais dificuldades (IBGE, 2012). Tendo como exemplo as estatísticas americanas quanto à expectativa de vida de PLM após o trauma e quanto a idade média de ocorrência da lesão (28,5 anos), a estimativa é que haja 300.000 pessoas com lesão medular no Brasil (NSCISC, 2013). Desta forma, as taxas populacionais brasileiras em relação ao índice crescente desta condição representa uma elevada incidência quando comparada à outros países (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

A respeito da prevalência classificatória dos casos de lesões na medula espinhal, estatísticas americanas recentes demonstraram que, entre os anos de 2010 a 2017, os casos de lesões medulares intercorridos neste intervalo de tempo indicam que a tetraplegia incompleta é, atualmente, a categoria neurológica mais frequente seguida da paraplegia incompleta, paraplegia completa e tetraplegia incompleta. Menos de 1% dos indivíduos acometidos receberam alta hospitalar em razão de recuperação neurológica (NSCICS, 2017) (FIGURA 2).

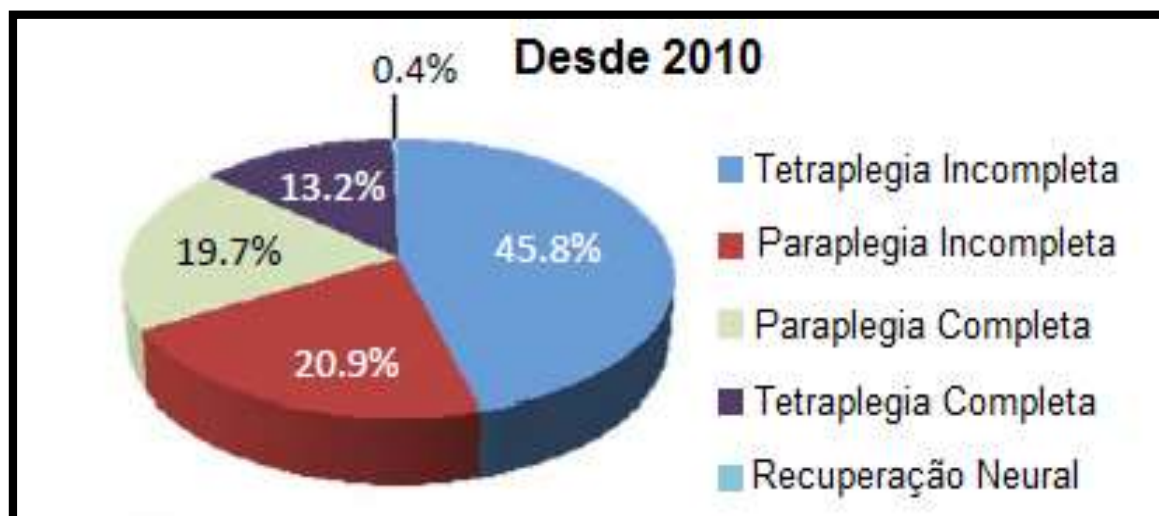


FIGURA 2 - Nível neurológico e extensão da lesão (Adaptado de NSCICS, 2017) .

Outro aspecto importante a ser considerado é a relação estabelecida entre a severidade da injúria e a mortalidade desta população em particular. Sabe-se que etiológicamente, cerca de 70% dos casos de lesões medulares são resultantes de traumas mecânicos (NSCICS, 2017). Por esta razão, 55% dos casos de lesões medulares atingem o segmento cervical (C1 à C7 – T1), ocasionando uma mortalidade de 15% após o primeiro ano com tetraplegia. Em contrapartida, os segmentos torácico (T1 – T11), torácico-lombar (T11 – T12 até L1 – L2) e lombosacral (L2 – S5) são causadores de 15% cada das lesões medulares (FÖRNER, 2015).

2.1.3 Classificação

A severidade das implicações repentinas e subsequentes à lesão medular inicial variam de acordo com o nível neurológico (i) bem como sua extensão (ii), que serão explicadas em detalhes a seguir:

(i) O nível neurológico - é definido pelo segmento medular comprometido referente a localização da vértebra, e classifica-se como paraplegia ou tetraplegia (CHEN et al., 2002; DORNELLES SCHOELLER et al., 2016; HORN et al., 2013;

KRASSIOUKOV et al., 2003; LEECH et al., 2016; MEYER et al., 2003; SILVA et al., 2014):

Paraplegia

Refere-se à paralização, parcial ou completa, do tronco e de ambos os membros inferiores, por efeito de lesões na medula torácica (T1 – T12) ou lombar (L1 – L5), ou das raízes sacrais (S1 – S5). Para fins classificatórios, também são subdividas em:

- Paraplegia alta: lesões medulares contidas entre os segmentos T1 até T6
- Paraplegia baixa: lesões medulares contidas entre os segmentos T7 até S5

Tetraplegia

Refere-se à paralização, parcial ou completa, dos quatro membros e do tronco, incluindo a musculatura respiratória e órgão localizados na região pélvica, por efeito de lesões na medula cervical (C1 – C7), que ainda pode ser subdividida em:

- Tetraplegia alta: lesões medulares contidas entre os segmentos C1 até C5
- Tetraplegia baixa: lesões medulares contidas entre os segmentos C6 até C7

Considerando portanto essa classificação, as lesões medulares podem ser organizadas em 4 níveis segundo as disfunções apresentadas pelo indivíduo em casos de comprometimento medular (FIGURA 3) (ASIA, 2008; DORNELLES SCHOELLER et al., 2016, GERRA, 2014). Casos de lesões medulares cervicais – acima da vértebra cervical 4 (C4) – demonstram a ausência do controle funcional de todas as regiões abaixo do pescoço, até mesmo do controle respiratório, tornando essa classe de injúria medular de alta morbidade. Quando as lesões abrangem a região torácica – entre a vértebra cervical 4 e a vértebra torácica 6 (T6) – os indivíduos acometidos possuem o domínio sobre o controle do sistema respiratório, entretanto perdem o controle sobre a regulação térmica, pressão arterial, e também do controle voluntário de órgãos. De modo semelhante, lesões medulares localizadas abaixo da vértebra torácica 6, atingem funções atribuídas aos nervos localizados das seguintes regiões vertebrais: porção final da coluna torácica (T7 à T12), coluna lombar (L1 à L5) e coluna sacro-coccígea. O comprometimento destas regiões exibe disfunções

semelhantes, tais como a ausência do controle voluntário da bexiga, dos intestinos e dos órgãos sexuais, além da perda do controle reflexo de órgão de região pélvica (DORNELLES SCHOELLER et al., 2016).

(ii) Extensão da lesão - pode ser determinada como completas ou incompletas, dependendo da área tissular nervosa acometida (ABUL-KASIM; K. STRÖMBECK; SUNDGREN, 2010; CHEN et al., 2002; HORN et al., 2013; LEECH et al., 2016):

Lesões completas:

Em uma lesão completa, o indivíduo acometido não apresenta funcionalidade motora ou sensitiva nos níveis medulares abaixo da injúria. Ela é decorrente de transecções completas, compressões graves, ou deterioração vascular intensa. Nestas injúrias, quanto mais alto for a localização do segmento medular lesionado, mais extensos e significativos serão os danos motores, sensitivos e autonômicos.

Lesões incompletas:

Em uma lesão incompleta, o indivíduo acometido apresenta alguma preservação funcional motora ou sensitiva nos níveis medulares abaixo da injúria. Esta conservação da funcionalidade demonstra que uma porção do tecido nervoso hígido transcorre a zona lesionada em direção à segmentos inferiores. Essas lesões decorrem de contusões geradas por pressões sobre a medula (ossos e/ou tecidos moles deslocados, ou edemas no interior do canal vertebral).

Sob este enfoque, existem aspectos quanto a severidade da injúria que precisam ser elucidados. Tendo como exemplo, em indivíduos paraplégicos com ausência total ou parcial da movimentação dos membros inferiores, a carência da coordenação motora das pernas é uma prioridade de relevância inferior quando comparada às disfunções gastrointestinais do sistema nervoso autônomo, atonia e/ou hiperatividade da bexiga urinária, funções sexuais e disreflexias do sistema cardiovascular, dado que estas podem culminar em óbito para as PLM. Em relação aos indivíduos tetraplégicos com ausência total e/ou parcial da movimentação dos membros superiores e inferiores, as habilidades para a manipulação de braços e mãos são consideradas como as de maior importância, assim como a viabilidade de ventilação pulmonar sem o uso de ventiladores mecânicos. Embora existam estas

peculiaridades, dor e espasmos musculares são fatores relevantes em quase todos os acometidos pela lesão medular (DORNELLES SCHOELLER et al., 2015; DORNELLES SCHOELLER et al., 2016; FÔRNER, 2015; HORN et al., 2013; KRASSIOUKOV et al., 2003).

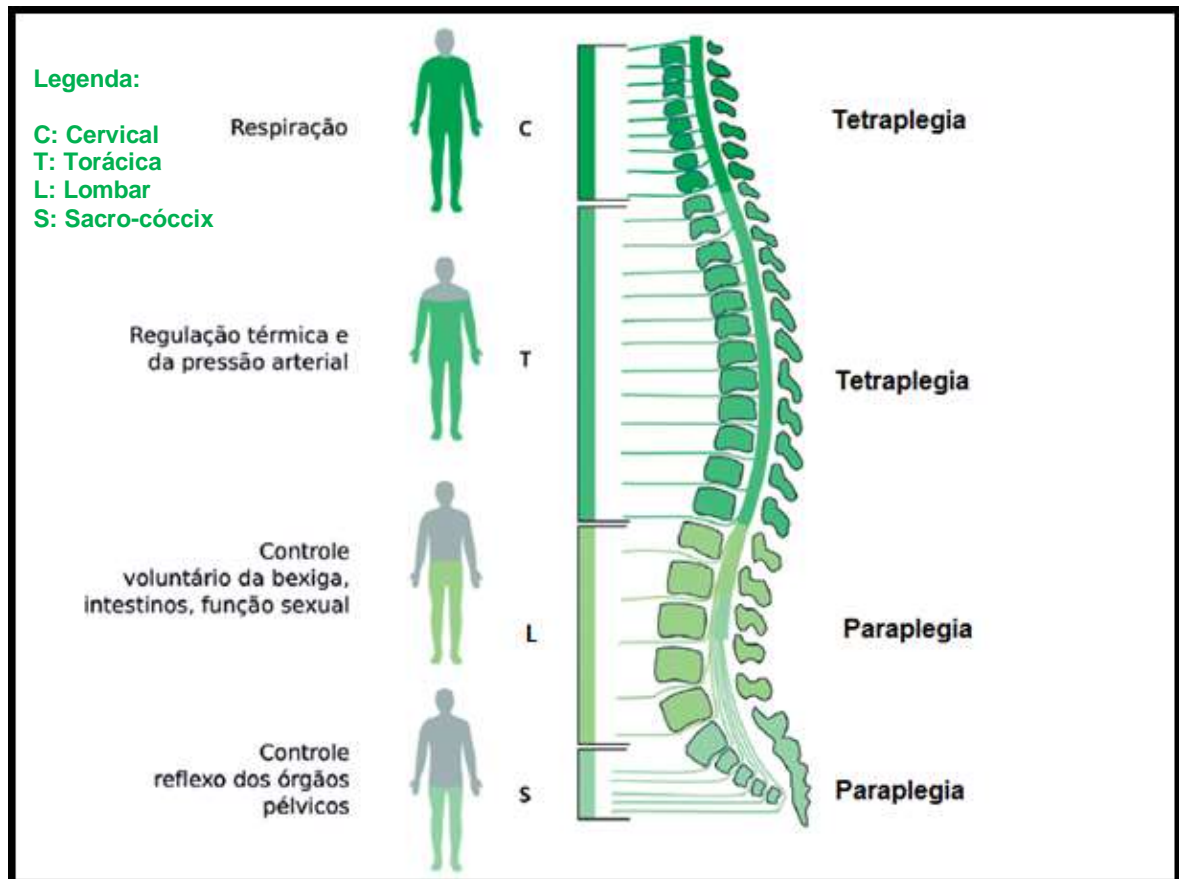


FIGURA 3 - Disfunções associadas à lesão medular (DORNELLES SCHOELLER et al., 2016).

2.1.4 Fisiopatologia da lesão medular

As extensões dos efeitos nocivos causados pela lesão medular possuem abrangência sistêmica, atingindo aspectos morfofuncionais do tecido nervoso, atuação do sistema imunológico, cascatas de sinalização molecular, fatores vasculares, entre outros. Esses elementos agem de maneira orquestrada e sinérgica gerando uma neuroinflamação prolongada com efeitos deletérios sobre o organismo.

A seguir, descreve-se a sequência dos mecanismos envolvidos na fisiopatologia da lesão medular num panorama histológico.

Sob aspecto histológico, distingue-se três fases da lesão medular em relação à danificação do tecido nervoso: fase aguda/lesão primária, fase intermediária/lesão secundária e fase crônica.

Fase Aguda - Lesão Primária

A lesão primária é o resultado imediato do impacto sobre o tecido nervoso medular, culminando em danos axonais. Usualmente, existem quatro mecanismos característicos de gerar a lesão primária, que são trauma, compressão, estiramento e laceração da medula. Trauma é uma forma de injúria e pode ser decorrente de fraturas ósseas e/ou ruptura aguda dos discos intervertebrais, gerando fragmentos ósseos ou cartilaginosos que comprimem a medula. No segundo mecanismo observa-se o impacto com compressão temporária, comumente encontrada em indivíduos portadores de patologias cervicais pré-existent, gerando uma lesão por hiperextensão. O forçado estiramento da coluna espinhal pode provocar o terceiro tipo lesão, que acontece devido ao cisalhamento ou estiramento da medula espinhal, bem como do seu aporte sanguíneo. Por fim, a laceração ou transecção medular são relacionadas ao quarto mecanismo de lesão primária. Estes ocorrem em razão do deslocamento vertebral severo ou ferimentos profundos que, consequentemente, geram uma secção parcial ou total da estrutura medular (DEL BEL et al., 2009; DORNELLES SCHOELLER et al., 2016; DUMONT et al., 2001; NUNES et al., 2017; SIDDIQUI et al., 2015; VARMA et al., 2013).

A fase aguda compreende desde o momento do impacto mecânico até alguns dias após o trauma, sendo que, neste curto período de tempo, vários processos patofisiológicos se iniciam paralelamente, destacando-se 2 subdivisões desta fase: (i) fase imediata e (ii) fase aguda.

(i) Fase Imediata

A fase imediata equivale, aproximadamente, as duas primeiras horas após o impacto, gerando o aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE) (causada pela lesão mecânica que corrompe a integridade desta barreira), morte de células nervosas seguida de choque medular e perda da funcionalidade motora no segmento lesado e em seus níveis caudais (BOLAND et al., 2011; FÖRNER, 2015; NOREMBERG, 2004). Mudanças no equilíbrio eletrolítico do tecido nervoso, principalmente em cátions (monovalente e bivalentes), contribuem para a falência funcional tissular normal induzindo ao aumento da concentração intracelular de sódio e aumento da concentração extracelular de potássio. Além disso, inclui-se a liberação em excesso de glutamato, o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central. O glutamato, ao entrar em contato com o ambiente hipóxico da medula danificada, realiza a hiperativação de receptores localizados nos canais ionotrópicos da membrana celular, culminando no influxo de cálcio para o interior da célula, aumentando a concentração do mesmo em níveis tóxicos e gerando a morte celular por excitotoxicidade. De maneira análoga, as células da glia também são afetadas, principalmente os oligodendrócitos, visto que estes possuem maior permeabilidade ao cálcio e são sensibilizados por substâncias produzidas pela ciclooxygenase-2 (COX 2), resultando em morte celular excitotóxica (CARLSON et al., 2010; FORNER, 2015; GERARDO-NAVA et al., 2013; TANHOFFER, 2004; WANG et al., 2013).

Ainda nesta sub-divisão, ocorre surgimento de pontos hemorrágicos discretos (petéquias) afastados do local da injúria original, sinalizando a perda da integridade das estruturas que formam os capilares sanguíneos, havendo ainda o aumento da expressão do fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) e da interleucina-1 β (IL-1 β) pela micróglia (DAVID & KRONER, 2011; DONNELLY & POPOVICH, 2008; FORNER, 2015). Estas micro hemorragias se expandem em poucas horas gerando um edema e aumento da pressão intersticial, resultando na minimização significativa da circulação sanguínea medular, sendo estes os causadores de severas alterações celulares. O edema se inicia a partir dos 30 segundos pós-lesão, se potencializa entre dois e seis minutos, e pode permanecer até duas semanas após a lesão inicial (NUNES et al., 2017).

(ii) Fase Aguda

As primeiras alterações da fase aguda ocorrem entre 2 e 48 horas após a injúria inicial, caracterizando-se pela formação de uma espessa zona hemorrágica e necrótica. Esta necrose é proeminente na substância cinzenta em razão da abundante vascularização deste local, resultando na preservação de apenas uma circunferência de substância branca após o período inflamatório (FIGURA 4). As petéquias que surgiram durante a fase imediata tornam-se numerosas e unem-se umas às outras formando uma grande área hemorrágica, resultando em isquemia. Este acontecimento é de extrema relevância uma vez que a hemoglobina é tóxica às células nervosas, ocasionando a expansão do tecido neural danificado (DORNELLES SCHOELLER et al., 2016; FORNER, 2015; GERZANICH et al., 2009). Ainda, a isquemia e a hemorragia atingem efeito máximo cerca de 2 horas pós-lesão inicial e regressando ao seus níveis fisiológicos 2 semanas após a lesão inicial (FIGLEY et al., 2014; MATSUSHITA et al., 2015).

Correlacionado a estes eventos consecutivos, ocorre o infarto tissular que expande a necrose do tecido nervoso, sendo ainda exacerbado por fatores como trombose e o choque neurogênico. O choque neurogênico caracteriza-se como uma condição em que o indivíduo acometido pela injúria apresenta hipotensão e bradicardia em virtude da perda da resistência vascular periférica (GULY et al., 2008; HAGEN, 2015).

Além do choque neurogênico, dentre as primeiras 24 horas após a lesão inicial, surge um outro processo denominado *choque medular*, evidenciado pela perda dos reflexos espinhais em níveis caudais, ou seja, este é relacionado a interrupção da funcionalidade neural distal à lesão, abrangendo reflexos, estímulos sensoriais, tônus motor e sensibilidade (DITUNNO et al., 2004; HOU et al., 2014).

Entre o período dos primeiros dois dias e duas semanas da injúria inicial, os astrócitos sobreviventes (ativados pela micróglia) irão se proliferar e se tornam hipertróficos, desta maneira, iniciando a constituição de uma cicatriz – a cicatriz glial – que forma uma barreira físico-química para regeneração do tecido medular lesado. Frequentemente, utiliza-se o termo “gliose” ou “astrogliose” para indicar a hipertrofia dos astrócitos e da multiplicação de filamentos intermediários, caracterizando-os

como “astrócitos reativos” (FIGURA 5) (DORNELLES SCHOELLER et al., 2016; MYER et al., 2006).

A cicatrização equivale à tentativa de reparo tissular, porém o processo reparatório do sistema nervoso central (SNC) é distinto dos mecanismos utilizados pelo sistema nervoso periférico (SNP). Em alterações microvasculares locais e disfunções da homeostase eletrolítica, as estruturas mielínicas dos axônios que compõem as fibras periféricas degeneram-se, secretando fatores que induzem o crescimento axonal e restauram a maioria das conexões pré-existentes. De maneira oposta, num processo de reparo do SNC (em razão da inflamação generalizada e dos fatores secretados no meio) toda a região do sítio da lesão é fagocitada e/ou metabolizada por macrófagos e micróglia, gerando uma cavidade cística, que posteriormente será preenchida pelo tecido da cicatriz glial (KARIMI-ABDOLREZAEI et al., 2010; KARIMI-ABDOLREZAEI et al., 2012; YOUNG, 2014).

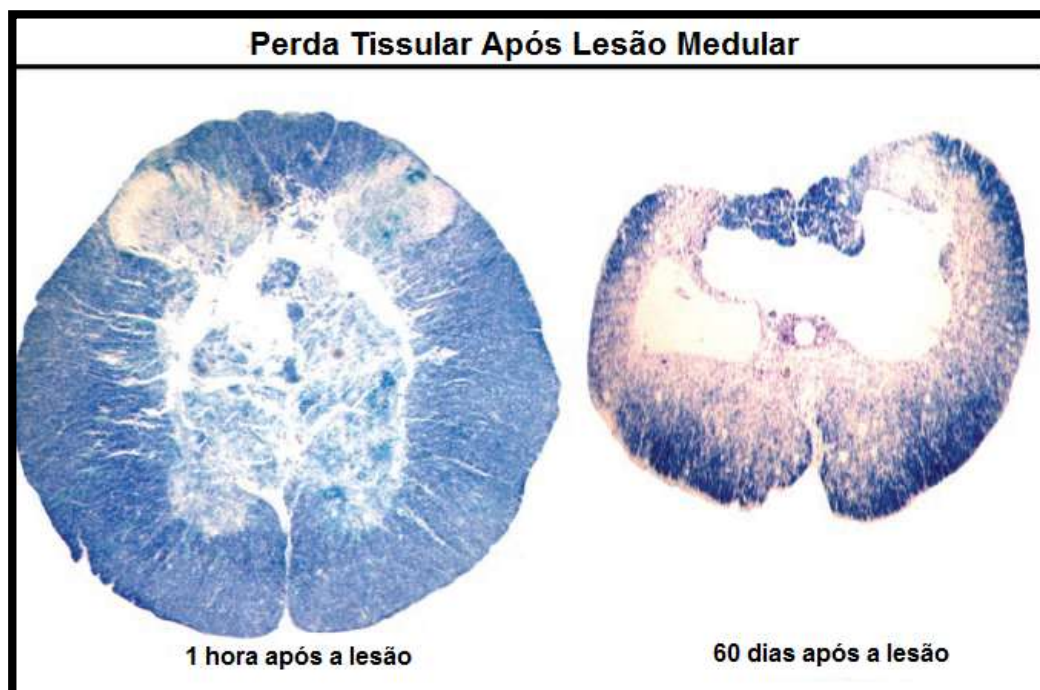


FIGURA 4 - Perda tecidual em modelos de lesão medular. Após o impacto forma-se um núcleo necrótico, principalmente na matéria cinzenta central (esquerda). Semelhante à fisiopatologia da lesão medular em humanos, a perda celular continua radialmente em todas as direções, de modo que a lesão se expande ao longo do tempo. Em 60 dias pós-LM, resta apenas uma fina faixa de matéria branca (direita) (HULSEBODCH, 2002)

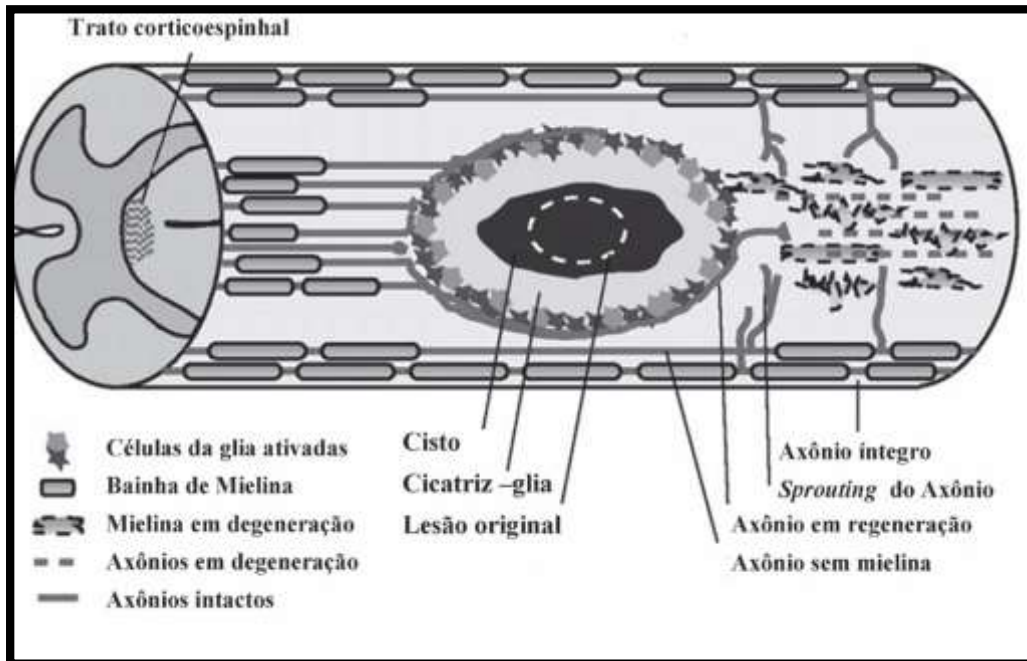


FIGURA 5 - Modelo de lesão medular. Com a injúria, fibras de axonais se rompem e se degeneram, bem como suas bainhas de mielina. Após as progressões fisiopatológicas supracitadas, a lesão original se expande tanto no sentido cranial quanto no caudal, em razão da lesão secundária. Um tecido de cicatrização, induzido por sinalização glial (a cicatriz glial), se forma ao redor de toda a lesão, impedindo uma possível regeneração (NUNES et al., 2017).

Fase Intermediária – Lesão Secundária

O início da fase intermediária ocorre entre a segunda e terceira semana após a lesão inicial e mantém-se por 6 meses, aproximadamente. Durante este intervalo, o processo de gliose continua até que ocorra a formação completa da cicatriz glial (SIDDIQUI et al., 2015). Ao longo da cicatrização, ocorre a destruição dos astrócitos reativos e consequente expansão da área lesionada, bem como a perda exacerbada de macromoléculas por intermédio da BHE comprometida (MYER et al., 2006, VOSKUHIL et al., 2009). Os astrócitos produzem moléculas através da cicatriz glial que fazem a inibição da regeneração axonal. Esta inibição gera a privação de substratos favoráveis ao crescimento axonal; falta de elementos necessários para sustentar o crescimento dos axônios; e produz proteoglicanos, substâncias inibitórias do alongamento axonal (FITCH; SILVER, 2008).

Agravando estes processos inibitórios, a mielina presente no SNC produz a glicoproteína associada à mielina (MAG), a Nogo-A, e a glicoproteína da mielina de oligodendrócitos (OMgp), que também realizam uma modulação inibitória do crescimento axonal. Estas moléculas localizam-se internamente na bainha de mielina e diretamente em contato com os axônios. Adicionalmente, fatores bioquímicos como peroxidação lipídica e produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) resultantes da ativação dos receptores de glutamato e suas vias mediadoras, favorecem o processo apoptótico (morte celular programada, diferente da necrose) (FITCH; SILVER, 2008; FORNER et al., 2012; NUNES et al., 2017; SCHWEIGREITER; BANDTLOW, 2006; TANHOFFER, 2004; WANG et al., 2015).

Fase Crônica

A cronificação de um quadro de lesão medular ocorre a partir do sexto mês após a injúria inicial, podendo perdurar durante dias ou até anos. Neste estágio, tanto a cicatriz glial quanto as cavitações/cistos medulares estão estabelecidas. Durante este período, pode ocorrer o processo de *degeneração walleriana* (retração axonal) ininterrupta. Este mecanismo representa a desintegração axonal anterógrada das células que sofreram secção após a lesão, posto que estas caracterizam-se por possuírem bainhas de mielina fragmentadas e distorcidas (DORNELLES SCHOELLER et al., 2016; FORNER, 2015; KRAMER et al., 2013; MOTHE & TATOR, 2013).

2.1.5 Intervenções clínicas

Em épocas anteriores, casos de contusões medulares eram tratados apenas com a imobilização da vítima, sendo que o mesmo era mantido sob observação hospitalar até o momento da alta. Porém, com o aperfeiçoamento de métodos intervencionistas e a progressão de abordagens médicas os tratamentos para pessoas com lesão medular melhoraram significativamente, desta forma contribuindo positivamente para a qualidade de vida do indivíduo.

Atualmente, em situações que envolvam quadros de lesão medular, análises e atenções primárias são realizadas no próprio local em que ocorreu o trauma, visto que os estágios iniciais do atendimento são cruciais e de extrema relevância para os resultados finais. A incorporação das normativas estabelecidas pelo ATLS (sigla proveniente do termo em inglês - *Advanced Trauma Life Support*) é primordial para aprimorar o atendimento ao acometido, apesar de comumente ocorrer desvios destes protocolos (SCHMIDT et al., 2009; VAN DER VELDEN et al., 2008). As intervenções clínicas vigentes resume-se em realizar a estabilização da coluna vertebral, reestabelecer o alinhamento, descomprimir o canal medular e utilização de altas dosagens de fármacos anti-inflamatórios esteroidais, como metilprednisolona, que são administrados até 8 horas após a injúria (ABUL-KASIM; K. STRÖMBCK; SUNDGREN, 2010; BYDON et al., 2014; CARVALHO, 2007; COX et al., 2015).

A metilprednisolona tem a capacidade de amenizar a severa neuroinflamação que se inicia logo após a injúria medular, minimizar a peroxidação lipídica e proteger as estruturas neuronais mantendo-as íntegras. Embora esses corticoides tenham sido utilizados nos últimos 30 anos como medicamento básico em casos de trauma da medula espinhal, pesquisas clínicas questionam a eficiência deste tratamento visto que sua utilização foi relacionada à infecções por úlceras de pressão, pneumonia, sepse, e até mesmo morte por complicações respiratórias, tornando seus efeitos controversos (FEHLINGS et al., 2014; HURLBERT, 2002).

Entretanto, evoluções na compreensão acerca da fisiopatologia da lesão medular tem direcionado vários estudos farmacológicos experimentais, como a eficácia de tratamentos com aminoesteróides, como o mesilato de tirilazade (um antioxidante desenvolvido para evitar a peroxidação lipídica sem haver a ativação de receptores para glicocorticóides), gangliosídeos GM1, gaciclidina GK11 (um antagonista dos receptores NMDA), naloxona (antagonista de receptores opióide) e nimodipina (bloqueador dos canais de cálcio do tipo L) entre outros. Contudo, os resultados obtidos em tais estudos não demonstraram melhora significativa na lesão medular e na neuroinflamação, quando comparados aos efeitos dos glicocorticóides (FADEN et al., 2016; FEHLINGS et al., 2014; SOUZA et al., 2013, WILSON et al., 2013).

Ademais, a comunidade científica tem explorado métodos intervencionistas como eletroestimulação de campo, estratégias neuroprotetoras, transplante de

substratos celulares no sítio da injúria, controle da excitotoxicidade, inibição da apoptose celular, minimização das disfunções autonômicas e alívio de comorbidades relacionadas à lesão medular, porém ainda não existe um consenso multiprofissional sobre os métodos terapêuticos intervencionistas (FORNER et al., 2012; BASSO & HANSEN, 2011; HURLBERT, 2000; MOTHE & TATOR, 2013; THURET et al., 2006; TZEKOU & FEHLINGS, 2014).

2.1.6 Comorbidades prognósticas musculoesquelética relacionadas à lesão medular

Como já mencionado, a lesão medular acarreta consequências severas ao indivíduo, culminando em graves danos funcionais sistêmicos. Esses danos são chamadas de comorbidades prognósticas, ou seja, ao ser acometido pela lesão medular, o indivíduo torna-se suscetível à outras patologias em razão dos efeitos deletérios sistêmicos gerados pela neuroinflamação, injúria tissular e pela ausência de funções motoras e sensitivas (DORNELLES SCHOELLER et al., 2016, FORNER, 2015; MS, 2013; TANHOFFER et al., 2007).

Incontestavelmente, para o desenvolvimento de qualquer movimentação corporal voluntária é necessário que haja a comunicação entre o sistema nervoso e a musculatura esquelética. A atuação associada de nervos periféricos, músculos e articulações promovem não apenas os movimentos de membros superiores e inferiores, mas também mantém a estabilidade do corpo e absorve impactos sobre o mesmo (SCHOELLER et al., 2012).

Como resultado da paralisia e da alteração autonômica decorrentes da lesão medular, uma sucessão de implicações fisiológicas sistêmicas são desencadeadas, das quais incluem a hipotrofia muscular esquelética (redução do volume e/ou força muscular), além das comorbidades anteriormente mencionadas. Adicionalmente, a ausência de movimentos ocasiona o encurtamento de músculos e tendões, colaborando com o agravamento da rigidez articular, formação de deformidades e aumento da desmineralização óssea (BICKEL et al., 2003; DEMANGE et al., 2016; SMELTZER, 2009).

Naturalmente, o tecido muscular apresenta grande complexidade estrutural e constitucional, haja vista a diversidade dos tipos de fibras musculares que compõem

os músculos. A classificação das fibras esqueléticas é feita de acordo com várias características, como: coloração (vermelha ou branca), metabolismo (glicolítico ou oxidativo), limiar de fadiga (alto ou baixo), tipo de contração (lenta – Tipo I ou rápida – Tipo II A ou Tipo II B), diâmetro (moderado ou grande), etc. (TABELA 1) (BERNE et al., 2010). Desta maneira, a funcionalidade de músculos específicos é o resultado da atividade coletiva entre os tipos de fibras, musculares e nervosas, que compõem a chamada *unidade motora* (nervo motor e as fibras musculares inervadas por ele) (TABELA 2) (BERNE et al., 2010; MINAMOTO, 2005).

	Tipo I: Oxidativa Lenta (Vermelha)	Tipo IIB: Rápida Glicolítica (Branca)	Tipo IIA : Rápida Oxidativa (Vermelha)
Isoenzima da miosina (taxa da ATPase)	Lenta	Rápida	Rápida
Capacidade de bombeamento de Ca^{++} do retículo sarcoplasmático	Moderada	Alta	Alta
Diâmetro (distância de difusão)	Moderado	Grande	Pequeno
Capacidade oxidativa: conteúdo mitocondrial, densidade capilar, mioglobina	Alta	Baixa	Muito Alta
Capacidade glicolítica	Moderada	Alta	Alta

TABELA 1 - Classificação básica dos tipos de fibras musculares esqueléticas (Adaptado de BERNE et al., 2010).

Embora a maioria dos músculos possua todos os tipos de fibras musculares esqueléticas (oxidativas, glicolíticas e mistas), a distribuição destas ocorre de maneira desigual. O fator determinante para que uma estrutura muscular apresente maior quantidade de um tipo de fibra muscular esquelética específica é a demanda funcional à qual o músculo é submetido. Por exemplo, o músculo sóleo exhibe, predominantemente, fibras de contração lenta e baixa fatigabilidade, posto que sua demanda de atividade requer o funcionamento de suas fibras durante 90% do tempo. De maneira contrária, músculos fásicos responsáveis pela produção de força, apresentam maior quantidade de fibras de contração rápida e são ativados apenas 5% do tempo (BERNE et al. 2010, FERREIRA et al. 2004, MINAMOTO 2005).

Ao contrário da população isenta de morbidades ou patologias específicas, não surpreendentemente indivíduos com lesão medular podem demonstrar drástica alterações nas unidades motoras causadas pela paralisia da musculatura afetada pela interrupção do estímulo nervoso (AZEVEDO, 2015; GORGEY & DUDLEY, 2007;

SPUNGEN et al., 2003). Tais alterações morfológicas, metabólicas e contráteis da musculatura esquelética ocorrem principalmente durante o primeiro ano após a lesão, onde observa-se que a composição proteica das fibras do tipo I A (contração lenta e baixa fadigabilidade) gradativamente são transformadas em fibras do tipo II B (contração rápida e alta fadigabilidade) resultando numa menor capacidade de gerar tensão (AZEVEDO, 2015; BICKEL et al., 2003; MINAMOTO, 2005; NAKI et al., 2011).

Características	Classificação da Unidade Motora	
	Tipo I	Tipo II
Propriedades do Nervo		
Diâmetro da célula	Pequeno	Grande
Velocidade de condução	Rápida	Muito rápida
Excitabilidade	Alta	Baixa
Propriedades das Células Musculares		
Número de fibras	Poucas	Muitas
Diâmetro da fibra	Moderado	Grande
Força da unidade	Baixa	Alta
Perfil metabólico	Oxidativo	Glicolítico
Velocidade de contração	Moderada	Rápida
Fadigabilidade	Baixa	Alta

TABELA 2 - Propriedades das unidades motoras (Adaptado de BERNE et al., 2010).

Pesquisas de Castro (2000) e colaboradores relatam que, além das alterações fenotípicas e funcionais correlacionadas à patofisiologia da lesão medular, a redução da área de secção transversal da fibra muscular (CASTRO et al., 2000). Estes estudos demonstraram que, indivíduos com LM completa exibiam fibras musculares com diâmetro 45% menor em comparação aos indivíduos hígidos e pacientes com lesão incompleta possuíam fibras musculares com diâmetro 33% menor em relação aos indivíduos hígidos. Esse achado em lesões incompletas se dá pela capacidade do músculo gerar contração devido a preservação de neurônios motores abaixo do nível da lesão (GORGEY & DUDLEY, 2007).

Com o propósito de minimizar algumas complicações decorrentes da lesão medular, terapias alternativas utilizando estimulação elétrica neuromuscular (EENM) foram implementadas como métodos fisioterapêuticos. Apesar da EENM induzir a contratilidade muscular em indivíduos com lesão medular, este comportamento induzido difere da contração fisiológica natural, dado que o primeiro induz inicialmente

a contração das fibras tipo II B (rápidas) e posteriormente das fibras tipo I A (lentas e resistentes à fadiga). Em contrapartida, na contração muscular fisiológica há o recrutamento inicial das fibras tipo I A, sendo que a mobilização de fibras musculares tipo II B ocorre somente quando existe a necessidade de forças adicionais (AZEVEDO, 2015).

2.2 ATIVIDADE FÍSICA

Conceitualmente, atividade física (AF) é definida como todo e qualquer movimento gerado pelo sistema musculoesquelético que resulte em gasto de energia em níveis superiores à taxa metabólica basal (quantidade de energia gasta para manutenção das atividades vitais do organismo). Por conseguinte, exercícios, atividades diárias, esportes recreativos ou competitivos, atividades ocupacionais e de lazer são classificadas como exemplos de AF. A continuidade e preservação dos padrões ideais de AF garante o aumento ou sustentação da aptidão física, sendo esta caracterizada como a capacidade de desenvolver valências como capacidade de gerar força, aumentar resistência muscular e cardiovascular, flexibilidade, agilidade, equilíbrio, entre outras. Por sua vez, quanto maior os níveis de aptidão física, maior será as condições de saúde geral de um indivíduo (CASPERSEN et al. 1985; WOJTEK et al, 2009).

Fundamentalmente, a aptidão física está associada à funcionalidade, uma vez que a competência para desenvolver AF de maneira independente está vinculada ao controle motor. De fato, sendo a funcionalidade física um fator limitante PLM, a aptidão física destes indivíduos enquadra-se num estado de alteração permanente (GARBER et al., 2011; LAVIS et al., 2007).

Por outro lado, num passado não muito distante, a AF era considerada um simples método para estabelecer o equilíbrio calórico, eliminando calorias consumidas exageradamente durante as refeições e evitando assim o acúmulo de tecido adiposo. Entretanto, hoje em dia, as funções atribuídas a AF são muito mais abrangentes e significantes, inclusive com seu importante papel sobre a composição corporal. Portanto, devido ao papel da AF na saúde geral de um indivíduo, o exercício físico atualmente é considerado o principal tratamento não farmacológico na prevenção e

tratamento de patologias físicas, psicológicas e mentais (GILLISON et al., 2009; OWEN et al., 2010)

Além de promover o aumento da longevidade, prevenção ou melhoria das funções motora e cognitiva e em quadros depressivos, a AF, quando praticada de maneira correta e regular exerce efeitos positivos sobre patologias crônicas conhecidas como doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) tais como, diabetes *mellitus* do tipo 2, doenças cardiovasculares, resistência insulínica, dislipidemias, cânceres, neurodegenerações, demências, osteoporose, infecções, dentre outras (BRANDT & PEDERSEN, 2010; BUCHHOLZ et al., 2003; HASKELL et al., 2007; SPUNGEN et al., 2003). Devido à severidade da lesão medular, um processo de envelhecimento fisiológico acelerado é desencadeado, fazendo com que as acima citadas fisiopatologias surjam de maneira precoce e com maior incidência nesses indivíduos, quando comparados com a população em geral. De fato, essas doenças são consideradas como as principais causas de morbidade e mortalidade em lesados medulares (GROAH et al., 2012; SILVA, TIRAPEGUI, PIRES, & RIBEIRO, 2004; TANHOFFER, 2016).

Em adição, pesquisas conduzidas por Bent K. Pedersen e colaboradores (2009) as DCNT foram consideradas como características integrantes de um perfil sindrômico cíclico nomeado de *Diseasome of Physical Inactivity* (termo em inglês equivalente à expressão “síndrome da inatividade física”) (FIGURA 6) (PEDERSEN, 2009; BRANDT & PEDERSEN, 2009). De fato, tanto o sedentarismo como a redução do volume do músculo esquelético podem reduzir de forma significativa o gasto energético diário, induzindo hipertrofia tissular adiposa que, por sua vez, gera inflamação crônica sistêmica, contribuindo para o surgimento de DCNT (BRANDT & PEDERSEN, 2009; DORNELLES SCHOELLER et al., 2016; HASKELL et al., 2007; PEDERSEN, 2009; TANHOFFER, 2016).

Ainda o mesmo grupo demonstrou que a prática regular de exercício parece exercer ação protetora, não apenas pela redução do tecido adiposo, mas também por induzir à formação de um ambiente anti-inflamatório pela mediação de citocinas liberadas pelo músculo esquelético (miocinas) ativo durante o exercício. Essas moléculas agem endocrinamente sobre o tecido adiposo visceral, impedindo a inflamação tissular do mesmo, além de viabilizar a oxidação lipídica. Sendo assim, a liberação de miocinas musculoesqueléticas através da AF implementa um método

efetivo na prevenção de patologias e também como um complemento em inúmeros tratamentos (GLEESON, 2007; PEDERSEN, 2010).



FIGURA 6 - Eventos cíclicos envolvidos na síndrome da inatividade física descrito por Pedersen em 2009 (A autora, 2017).

Em adição, a AF regular influencia positivamente a concentração plasmática de lipídios, causando o aumento dos níveis de colesterol HDL com redução do colesterol total, LDL e triglicerídeos em PLM (NASH; MENDEZ 2007). Outra possível vantagem atribuída à prática de exercícios regulares é o efeito sobre o sistema imunitário, que é considerado uma das maiores vulnerabilidades em PLM. Corroborando os dados já apresentados, Gleeson e Williams (2013) demonstraram os efeitos benéficos da AF, onde um grupo de indivíduos hígidos praticantes de exercícios regulares (2 horas por dia) demonstraram diminuição de 29% de chances de adquirir infecções respiratórias, quando comparado ao grupo de pessoas sedentárias (GLEESON; WILLIAMS, 2013).

Em PLM, estudos apontam que AF tem a capacidade de melhorar a imunocompetência destes indivíduos através do aumento plasmático de cortisol, catecolaminas e citocinas, além de promover a funcionalidade de macrófagos e linfócitos (LEICHT et al., 2013). Todavia, a responsividade do sistema imunológico é

dependente de alguns fatores envolvidos na AF, tais como a intensidade, volume e duração, e exigem prudência quando aplicados em PLM. Exercícios intensos e de longa duração são capazes de produzir imunossupressão temporária (3 – 24 horas após o exercício). Estas alterações imunitárias são mais significativas em casos de exercícios com duração acima de 90 minutos, com a variação de intensidade alternando entre moderada e intensa e quando feitos sem adequada ingestão alimentar. Diante disto, indivíduos comprometidos imunologicamente e propensos à infecções, como pessoas com lesão medular, a correta prescrição de AF é de vital importância para a manutenção da saúde em estado ótimo (DORNELLES SCHOELLER et al., 2016; GLEESON & WILLIAMS, 2013; LEICHT et al., 2013; TANHOFFER et al., 2007; TANHOFFER, 2016).

Embora haja o reconhecimento dos benefícios gerados pela prática de AF e da elevada taxa de patologias diagnosticadas em PLM associadas à inaptidão física, esta população ainda é considerada extremamente sedentária, exibindo um dos menores índices de AF quando comparada a outros grupos com necessidades especiais. Este fator somado às diversas fisiopatologias que um indivíduo com lesão medular está sujeito, direcionam à drástica redução da longevidade e qualidade de vida destas pessoas (TANHOFFER et al., 2007; 2014). Ademais, a lesão medular tornou-se um problema dispendioso para o sistema público de saúde, visto que essa população possui maior susceptibilidade em apresentarem DCNT, que por sua vez, são responsáveis por 75% dos gastos com atenção à saúde no Sistema Único de Saúde brasileiro (SUS) (MS, 2013).

Por conseguinte, o desenvolvimento de pesquisas que elucidem a associação estabelecida entre fisiopatologia do SNC, imunidade, atividade física e nutrição são de grande importância na composição de metodologias que colaborem para o aperfeiçoamento físico e psíquico, contribua para a reintegração social e proporcione melhorias na qualidade de vida desta população, visto que ainda não existe um consenso acerca da abordagem terapêutica multiprofissional em casos de lesão medular (DORNELLES SCHOELLER et al., 2015; DORNELLES SCHOELLER et al., 2016; GILLISON et al., 2009; NETO & GENTIL, 2011; POSSAMAI et al., 2010; THURET et al., 2006).

2.2.1 Atividade física em diferentes intensidades

Como já comentado anteriormente, a prática de AF podem promover efeitos benéficos ou deletérios para um organismo, e esse fator pode depender de aspectos como intensidade e duração da AF (BASSO, et al, 2011).

Até recentemente, apenas exercício de longa duração e intensidade moderada (intensidade entre 60-75% da frequência máxima, com duração mínima de 150 minutos por semana) eram considerados como exclusivos promotores de níveis ótimos de saúde, devido ao aumento da capacidade cardiorespiratória, aumento do volume e biogênese mitocondrial, oxidação lipídica e manutenção da imunocompetência (TALANIAN et al., 2007).

Entretanto o paradigma da exclusividade do exercício moderado de longa duração como agente promotor de saúde vem sendo derrubado, onde estudos demonstram respostas similares ou mesmo superiores sobre fatores como emagrecimento e ótimo funcionamento do sistema imunitário (HOOD, 2011; BURGOMASTER, 2008; GIBALA, 2008). Por exemplo, Burgomaster et al. (2008) comparou dois protocolos de treinamento em pessoas hígdas e sedentárias, onde um grupo exercitou-se em bicicleta ergométrica por 40 - 60 minutos, à 65% do pico máximo de oxigênio (VO_{2pico}), 5 vezes por semana, e um segundo grupo executou entre 4 à 6 tiros '*all out*' de 30 segundos, com 4:30 minutos de recuperação, 3 vezes por semana. Ambos os grupos executaram os protocolos durante 6 semanas. Os resultados demonstraram que apesar da discrepância com relação ao tempo dispendido de treino (~1:30 h/semana de exercício intenso e ~4:30 h/semana de exercício moderado), os resultados obtidos para marcadores musculares mitocondriais, oxidação lipídica e de carboidratos não revelaram significância estatística entre grupos (BURGOMASTER, 2008).

Apesar dos resultados similares, a grande vantagem com sessões de exercícios mais curtos para PLM, é o fato da proteção da musculatura e articulações da região da cintura escapular, uma vez que indivíduos com lesão medular apresentam alta incidência de lesões por repetição nessa região (ERIKS-HOOGLAND, 2014; ERIKS-HOOGLAND, 2011).

2.2.2 Plasticidade musculoesquelética e exercício físico

A movimentação do corpo humano permite modificações estruturais e adaptação muscular afim de garantir a produção de força. Devido á moldabilidade tissular musculoesquelética, suas células são diretamente influenciadas por esta característica. Desta maneira, um músculo possui a capacidade de remodelar o funcionamento de suas fibras segundo os estímulos que recebe. Várias pesquisas tem demonstrado que o músculo sofre efeito do exercício (BICKEL, SLADE, HADDAD, ADAMS, & DUDLEY, 2003; BRANDT & PEDERSEN, 2010; HOLLOWAY et. al., 2015) e de outros estímulos como atividade neuromuscular (BOFF, 2008), hormônios (ADAMS et al., 2000; BAHÍ et al., 2005), idade (LIEBER, 2002), estímulos elétricos (KOURTIDOU-PAPADELI et al., 2004; NAKI, RIBERTO, MOREIRA, & BATTISTELLA, 2011) sendo que todos estes atuam sobre a citoarquitetura da fibra.

As modificações musculares estimuladas pela prática de exercícios físicos abrangem importantes particularidades como adaptações no metabolismo oxidativo, acréscimo na quantidade e tamanho de mitocôndrias, aumento da atividade enzimática relacionada à vias de metabolização energética (ciclo de Krebs, glicólise e glicogenólise) e elevação da síntese proteica. Curiosamente, todos estes desdobramentos bioquímicos direcionam para o aprimoramento da captação e disponibilidade de oxigênio, que por sua vez, ajuda no desempenho mecânico da fibra muscular. Estas adaptações cooperam para a performance da contração fisiológica e geração de força, permitindo, desta maneira, que as fibras musculares se moldem de acordo com o estímulo recebido (BOFF, 2008; MINAMOTO, 2005; SCHIAFFINO & REGGIANI, 2011).

Sabe-se que o músculo esquelético é um tecido que possui intensa atividade metabólica em razão das funções por ele desempenhada. As células musculoesqueléticas tem sua origem a partir de células mesodermis e sua diferenciação é controlada por grupamentos de fatores transcricionais, chamados Fatores Miogênicos Reguladores (MRF). Ao serem ativados, os MRF se inserem em regiões específicas do ácido desoxirribonucléico (DNA), interagindo com regiões promotoras específicas e estimulando a transcrição de genes que expressam o fenótipo da fibra muscular. Através deste fenótipo, é possível regular a diversidade proteica (como a Cadeia Pesada de Miosina – MHC), plasticidade e especialização

da fibra formada, bem como a composição do músculo esquelético (FERREIRA et al., 2004; HUTCHINSON, LINDERMAN, & BASSO, 2001; THOMPSON, JOHNSON, & SHOEMAN, 1998). Sob este panorama, através da atividade dos MRF as células mesodermas são transformadas em mioblastos e, sequencialmente, os mioblastos em miócitos. Os miócitos (células mononucleadas) unem-se formando a fibra muscular multinucleada. Uma parcela da população não diferenciada de mioblastos permanecem abaixo da lâmina basal da fibra muscular, formando as células satélites responsáveis pelo crescimento e regeneração muscular. De acordo com a necessidade, as células satélites são ativadas e se fixam às fibras existentes. Na presença de estímulos constantes, as células satélites são ativadas, diferenciam-se e participam na formação de novas miofibrilas e fibras maduras atendendo a uma demanda funcional (HAWKE & GARRY, 2001; RANTANEN, HURME, LUKKA, HEINO, & KALIMO, 1995).

Visto que o músculo de mamíferos é formado por uma população heterogênea de fibras musculares, alterações no predomínio de um tipo específico de fibra e/ou na composição na fibra, exibe uma base fisiológica intervencionista destinada à sustentabilidade do músculo. Por exemplo, indivíduos expostos a longos períodos de imobilidade ou desnervação muscular, manifestam alterações na expressão das isoformas da MHC (BOFF, 2008; MINAMOTO, 2005). Experimentos envolvendo lesões da medula espinhal de ratos verificaram a reestruturação de músculos predominantemente lentos (maior quantidade de fibras tipo I) para fibras características de músculos rápidos (fibras tipo II) (SCHIAFFINO & REGGIANI, 2011; THOMPSON et al., 1998).

Semelhantemente, o exercício físico também é capaz de promover modificações nas fibras musculares e, conseqüentemente, altera as características funcionais do músculo. Treinamentos distintos geram mudanças relacionadas aos tipos de fibras, número de fibras e tamanho das fibras de acordo com a especificidade do exercício. De modo geral, o treinamento físico estimula mudanças proteicas, propiciando a transição das fibras no sentido lento para rápido (fibras tipo I → fibras tipo II) ou rápido para lento (fibras tipo II → fibras tipo I). Ao realizar treinamentos de intensidade baixa/moderada e longa duração, pode-se induzir a conversão de fibras rápidas em fibras lentas, por outro lado, exercícios de alta intensidade e curta duração desloca esta conversão no sentido oposto. Estes fatores cooperam para um melhor

entendimento das respostas adaptativas hipertróficas na tentativa de aumentar o recrutamento de unidades motoras (BOFF, 2008; MELONI, 2005; SCHIAFFINO & REGGIANI, 2011).

Durante a realização do trabalho muscular (modificação muscular do estado sedentário para o fenótipo exercitado), mecanismos moleculares que governam a expressão gênica, atividade enzimática e vias específicas de sinalização de síntese proteica são modificados durante a atividade física e refletem respostas agudas ou adaptações crônicas do tecido (FIGURA 7).

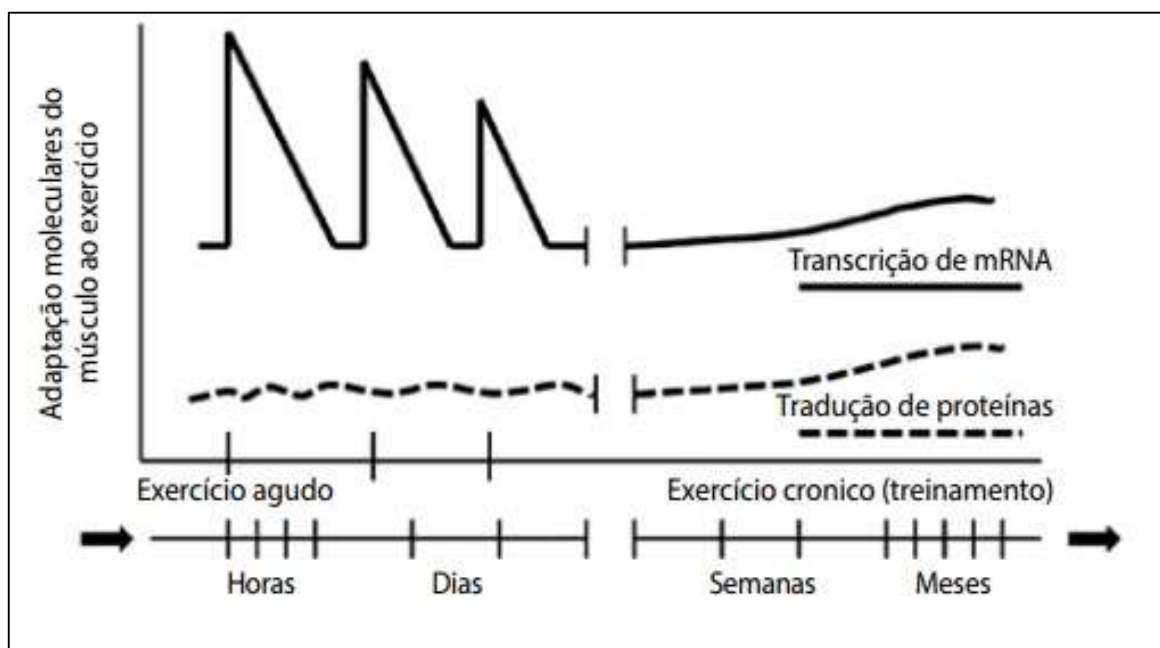


FIGURA 7- Adaptações moleculares agudas e crônicas do músculo esquelético ao exercício físico (ABREU, LEAL-CARDOSO, & CECCATTO, 2017).

O comportamento molecular frente a estímulos repetitivos agudos promovem um crescimento súbito e transitório no conteúdo de ácido ribonucleico mensageiro (RNAm), sendo que este retorna à níveis basais após o término do estímulo. Contudo, o treinamento físico contínuo, desencadeia um aumento progressivo do RNAm e proteínas, culminando em ganho de desempenho, visto que o estímulo é constante. Logo, características cumulativas do pós-exercício abrangem mecanismos biológicos essenciais como a transcrição de genes responsáveis pela regulação da miogênese, à metabolização de carboidratos e recrutamento de lipídeos, ao metabolismo mitocondrial e fosforilação oxidativa e ao transporte de substratos (ABREU, LEAL-CARDOSO, & CECCATTO, 2017). Pesquisas demonstram que a expressão de RNAm

aumenta entre 3 a 12 horas após a realização do exercício físico (COFFEY & HAWLEY, 2007).

Sob um panorama objetivo, a regulação molecular desencadeada pelo exercício promove a alteração dos fatores transcricionais, dentre os quais destacam-se os MEF-2 (*Myocyte Enhancer Factor 2* - MEF2), responsáveis pela expressão de genes reguladores do desenvolvimento e diferenciação celular; as HDAC (*Histone Deacetylase Activities*), fundamentais no remodelamento da cromatina e alguns fatores envolvidos no maquinário de metabolismo mitocondrial, como o NRF 1 e 2 (*Nuclear Respiratory Factor*). Por intermédio destes elementos, a contração muscular resultante do exercício físico, desencadeia uma elevada expressão gênica e, conseqüentemente, a gradual e progressiva síntese de proteínas encarregadas pelo funcionamento estrutural do músculo esquelético, bem como regulações do mesmo durante o treinamento físico. Tais adaptações tissulares contribuem de maneira coletiva para aumentar a disponibilidade de substrato energético, competência respiratória mitocondrial e a contratilidade durante o exercício, culminando no aperfeiçoamento do desempenho físico e minimização do desequilíbrio homeostático e fadiga (ABREU et al., 2017; BERNE, KOEPPEN, & STANTON, 2010; BOOTH & THOMASON, 1991; FLÜCK, 2006).

Adicionalmente, durante a contração muscular estimulada por meio do exercício físico ocorre a ativação de vias moleculares no interior das células musculoesqueléticas ajustando a plasticidade tissular. Assim sendo, a atividade mecânica do músculo promove mudanças de ativam ou inibem sinalizações específicas, como o “turnover” da adenosina trifosfato, o fluxo de cálcio, a produção de EROS e a pressão de oxigênio intracelular. Estes agentes são responsáveis por modificar a homeostase do meio celular, originando uma série de adaptações no tecido muscular ao exercício (COFFEY & HAWLEY, 2007; FLÜCK, 2006).

2.2.3 Respostas celulares ocasionadas pelo exercício físico

A partir de fundamentos bioquímico, nota-se que existe um equilíbrio entre síntese e degradação proteica. Sendo assim, o anabolismo muscular irá ocorrer a medida que a taxa de síntese proteica for superior a taxa de degradação durante um

período prolongado (semanas e meses), resultando em crescimento muscular a partir de um desempenho mecânico como uma condição adaptativa crônica. O aumento de massa magra muscular pode acontecer através de três mecanismos distintos: alongamento muscular, hipertrofia e hiperplasia (FUGURA 8). Normalmente, o crescimento da fibra esquelética, abrange tanto o alongamento muscular (adição de sarcômeros) ou o aumento do diâmetro da fibra musculoesquelética (adição de miofilamentos e miofibrilas), também chamado de hipertrofia. Por outro lado, a formação de novas fibras musculares (hiperplasia) é um processo incomum no músculo esquelético, visto que este possui pouca capacidade de proliferação. Vale lembrar que a formação de novas fibras musculares é resultado da diferenciação das células satélites, sendo que a mobilização destas pode ocorrer em casos de lesões musculares comuns na prática de esportes. Contudo, a destruição celular deste tecido, ocasiona a formação de uma cicatriz (BERNE et al., 2010; JÄRVINEN, KÄÄRIÄINEN, JÄRVINEN, & KALIMO, 2000).

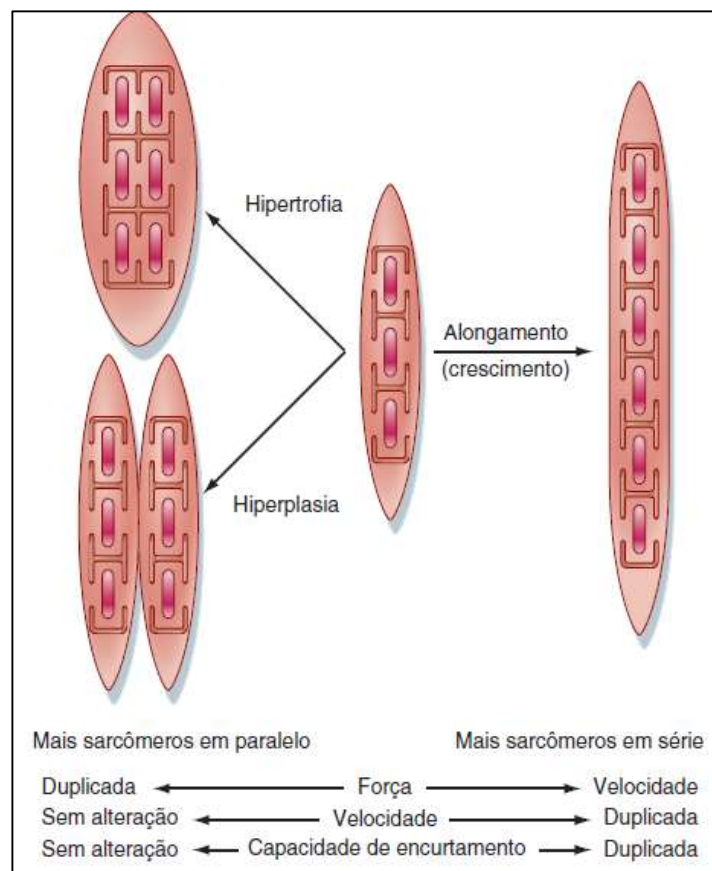


FIGURA 8 – Crescimento da fibra muscular: alongamento, hipertrofia e hiperplasia (BERNE, KOEPPEN, & STANTON, 2010).

De acordo com o tipo de treinamento aplicado, coma duração do exercício e com o tipo de fibra analisada pode-se modular o processo de acréscimo de massa muscular. Exercícios de força, são caracterizados por utilizarem muita carga e são realizados durante um breve período. Esses exercícios, quando agudos, são capazes de aumentar a atividade proteica muscular por até 48 horas após a conclusão do exercício. Yang e colaboradores (2005) verificaram que 4 a 6 horas após o término de uma sessão de exercício de força observou-se a ativação de vários fatores miogênicos responsáveis pelo desenvolvimento da hipertrofia (YANG, CREER, JEMIOLO, & TRAPPE, 2005). Desta modo crônico, esse tipo de treinamento culmina na hipertrofia musculoesquelética através da integração da atividade gênica e a incorporação de mionúcleos a fibras pré-existentes via células satélites (COFFEY & HAWLEY, 2007).

Diferentemente dos exercícios de força, os exercícios de resistência são conhecidos por garantirem a contratibilidade musculoesquelética continuada e por períodos prolongados (exercícios superiores a 30 minutos). Este tipo de exercício esta associado principalmente com o crescimento da densidade mitocondrial e atividade enzimática oxidativa, ou seja, os efeitos fisiológicos são refletidos como uma adaptação para o aumento da capacidade celular em gerar energia. Assim, observa-se o aprimoramento de parâmetros como maior concentração de mioglobina e consequente aumento no aporte de oxigênio, oxidação mais eficiente em razão do aumento do volume mitocondrial, e melhora da oxidação lipídica, visto que após esse tipo de exercício encontra-se maior quantidade de reservatórios lipídicos musculares (COFFEY & HAWLEY, 2007; HOLLOWAY ET AL., 2015; JESUS & SANTOS, 2014).

2.2.4 Lesão muscular e cicatrização

Lesões musculares são, em sua grande maioria, causadas por contusões, estiramento ou lacerações. Quando relacionadas a prática de esportes, cerca de 90% das lesões musculares são originadas por contusões ou estiramento. Em situações em que o músculo é submetido a uma força súbita e de caráter compressivo, como uma colisão muscular direta, pode ocorrer a lesão muscular por contusão. Porém, esse tipo de trauma é incomum em práticas como natação, sendo comumente associadas a esportes de contato. Em contrapartida, os estiramentos musculares

estão relacionados à exercícios de salto ou velocidade. A força de tração, quando exercida sobre o tecido muscular, ocasiona um excessivo estiramento estrutural e rompimento das miofibrilas (JÄRVINEN, KÄÄRIÄINEN, JÄRVINEN, & KALIMO, 2000; LAUMONIER & MENETREY, 2016).

Quando ocorre uma lesão no tecido muscular o processo de cicatrização acompanha uma padronização. Curiosamente, o tecido muscular não se regenera da mesma maneira que o tecido ósseo, por exemplo. Na realidade, a regeneração implica formação tissular idêntica à células pré-existentes, já tecidos moles, como o músculo, ocorre o processo de cicatrização com formação de fibrose. Este mecanismo é uma forma de reparação, visto que o tecido formado é diferente da estrutura anterior (LAUMONIER & MENETREY, 2016). Por tanto, durante a cicatrização pode-se identificar três etapas distintas: degeneração ou fase inflamatória, caracterizada pelo rompimento das miofibrilas, seguido da formação de hematoma, proliferação de células mediadoras inflamatórias e necrose; fase de regeneração, em que ocorre processos fagocíticos do tecido necrosado, regeneração miofibrilar com a produção de tecido conectivo cicatricial, vascularização e crescimento neural; e por fim, a fase de remodelamento, diferenciada pela maturação miofibrilar, reestruturação do tecido cicatricial, e recuperação da capacidade funcional (AH JÄRVINEN, JÄRVINEN, KALIMO, & JÄRVINEN, 2013; JÄRVINEN ET AL., 2000; LAUMONIER & MENETREY, 2016; LIEBER, 2002).

Logo após a lesão muscular, ocorre a infiltração de células polimorfonucleadas no sítio da lesão. Com o passar das primeiras 24 horas, estas células são substituídas por monócitos que posteriormente, são transformados em macrófagos capazes de realizar funções proteolíticas e fagocíticas (LAUMONIER & MENETREY, 2016). O tecido necrosado, assim como as células satélites, liberam agentes quimiotáticos responsáveis pelo alastramento da resposta inflamatória e das células envolvidas neste processo (CHAZAUD et al., 2003; HAWKE & GARRY, 2001; KARALAKI, FILI, PHILIPPOU, & KOUTSILIERIS, 2009). De maneira complementar, ocorre ainda a liberação de citocinas e fatores de crescimento como o TNF- α , fatores de crescimento de fibroblastos (FCF), IL-1 β , IL-6 e fatores de crescimento derivados de plaquetas (KARALAKI, FILI, PHILIPPOU, & KOUTSILIERIS, 2009).

Com a redução do processo de degeneração e inflamação, iniciam-se os mecanismos de reparo tissular através de dois sistemas sincrônicos e antagônicos: a

regeneração miofibrilar e a constituição da cicatriz tissular. Visto que as miofibrilas são células pós-mitóticas, a restauração após uma lesão ocorre por intermédio das células satélites localizadas abaixo da lâmina basal, que se proliferam, se diferenciam em miofibrilas e migram até a região que necessita de reparo (HAWKE & GARRY, 2001; KARALAKI, FILI, PHILIPPOU, & KOUTSILIERIS, 2009; LAUMONIER & MENETREY, 2016). Apesar de competirem entre si, deve existir equilíbrio entre os processos de regeneração das miofibrilas e formação do tecido cicatricial, a fim de que ocorra a recuperação das funções contráteis do músculo. De fato, a formação do tecido conectivo da cicatriz ocorre a partir do hematoma que invade os espaços formados pela ruptura das fibras. A fibrina e a fibronectina provenientes do sangue se organizam formando uma rede que servirá para a sustentação do tecido de granulação e acomodamento dos fibroblastos recrutado. Além disso, o tecido de granulação possui a propriedade de resistir à forças de tensão aplicadas contra ele (LAUMONIER & MENETREY, 2016).

Posteriormente, os fibroblastos iniciam a síntese de proteínas e proteoglicanos que compõem a matriz extra celular (MEC). Inicialmente, o tecido conjuntivo agregado ao sítio da lesão é o local de maior vulnerabilidade do músculo logo após o traumatismo. No entanto, sua resistência tissular é intensificada a medida que ocorre a síntese de colágeno tipo 1, sendo que cerca de 10 dias após a lesão inicial a cicatriz atinge seu ponto de maturação (JÄRVINEN, KÄÄRIÄINEN, JÄRVINEN, & KALIMO, 2000; LAUMONIER & MENETREY, 2016).

2.2.5 Lesão medular e hipotrofia muscular

Como já mencionado anteriormente, a lesão medular produz vários efeitos deletérios, sendo a hipotrofia musculoesquelética uma das comorbidades mais frequentes em PLM. Além disso, hipotrofia é caracterizada pela perda de massa e redução da capacidade muscular, desencadeando condições funcionais e morfológicas peculiares, como redução dos sarcômeros em série, redução da área da secção transversal da fibra e das proteínas que a compõem, diminuição da força e da resistência à fadiga, aumento da resistência insulínica e decréscimo da densidade capilar. A diminuição da tensão de carga imposta naturalmente sobre a musculatura

gera um desequilíbrio entre a síntese e degradação proteica. Com o desuso muscular, ocorre o favorecimento da proteólise e da taxa degradativa e, conseqüentemente, redução da síntese proteica (BOSI et al., 2008; DURIGAN et al., 2006; MACHADO et al., 2009).

Os mecanismos responsáveis pela hipotrofia são múltiplos, contudo, sabe-se que além da estimulação preteolítica intensa, ocorre também a redução de mionúcleos das fibras musculoesqueléticas, contribuindo para a diminuição do tamanho das fibras (PEZARAT CORREIA, 2012). O diâmetro da fibra muscular está relacionado à quantidade de miofibrilas dispostas no interior da célula, sendo que as miofibrilas abrangem cerca de 70 - 80% da proteína total contida no ambiente intracelular. Desta maneira, não é incomum que este “*turnover*” de proteínas ocorra a todo momento de maneira natural, visto que a substituição de proteínas contráteis é essencial para o bom funcionamento muscular (LIEBER, 2009).

A figura 9 é uma representação simplista que demonstra a relação bidirecional estabelecida entre a síntese e degradação proteica. Quando existe equilíbrio entre a taxa de síntese e degradação proteica, o volume muscular permanece o mesmo (FIGURA 9A). Quando a síntese proteica é prejudicada ou insuficiente, o volume muscular diminui (processo análogo da atrofia) (FIGURA 9B). Por outro lado, quando a taxa de síntese é maior que a degradação, ocorre o aumento do volume muscular (hipertrofia) (FIGURA 9C).

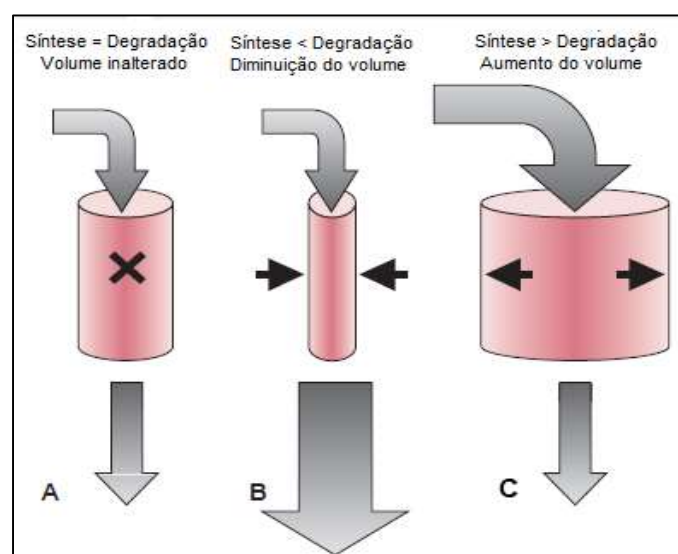


FIGURA 9 – Ilustração representativa da relação bidirecional estabelecida entre a síntese e degradação proteica (Fonte: LIEBER, 2009).

Quanto a susceptibilidade, observa-se que fibras do tipo 1 (lentas) são mais vulneráveis à hipotrofia quando comparadas às fibras do tipo 2 (rápidas), em razão do tipo de metabolismo que cada uma possui. Fibras de metabolismo oxidativo tendem a reduzir sua atividade durante o período de desuso muscular. Outro fator determinante da vulnerabilidade à hipotrofia é a característica funcional da fibra. Por exemplo, fibras que compõem músculos posturais (anti-gravitacionais) possuem maior atividade basal do que músculos não posturais (CANCELLIERO, ALBERTO, ROBERTO, & GUIRRO, 2005; HERRERA, ZIMMERMAN, DYKSTRA, & THOMPSON, 2001). Corroborando com essas informações, estudos de Herrera e colaboradores (2001) verificaram o padrão hipotrófico da inatividade muscular do sóleo e do extensor longo dos dedos (EDL). Nesta análise, os pesquisadores constataram que o sóleo sofre um processo de atrofia mais intenso quando comparado ao EDL, justamente pela composição das fibras e pela função de cada músculo (HERRERA, ZIMMERMAN, DYKSTRA, & THOMPSON, 2001).

O período de desuso muscular também tem importância no estabelecimento do quadro hipotrófico. Assim sendo, a hipotrofia pode exibir variações desde 15 a 70% de perda, dependendo do modelo experimental utilizado e das fibras analisadas. Alguns autores sugerem que a maior parte das mudanças ocorrem durante os primeiros sete dias, sendo que após este período, a perda muscular torna-se mais lenta (DURIGAN et al., 2006; FERREIRA et al., 2004). Concomitantemente à perda de massa magra, alguns estudos apontam que dentro de sete dias após a imobilização de um membro ocorre um aumento expressivo de tecido conjuntivo (BOSI et al., 2008). Análises realizadas por Józsa e sua equipe (1990), comprovaram que, independente do modelo utilizado para induzir o desuso muscular, a quantidade de tecido conjuntivo do perímio e do endómio aumentam surpreendentemente, variando de 50 à 600% em apenas uma semana de desuso do músculo sóleo (JOZSA et al., 1990).

3 JUSTIFICATIVA

Sabe-se que lesão medular acarreta diferentes comorbidades e que são escassos os tratamentos efetivos disponíveis, assim como metodologias para a minimização dos sintomas. Ademais, PLM apresentam diversas consequências primárias e secundárias concomitantemente ao déficit motor, sendo que ambas direcionam à inatividade física e contribuem para o agravamento da perda progressiva da musculatura. Embora a prática regular de exercícios físicos contribua para a manutenção e acréscimo da massa magra, indivíduos lesados medulares apresentam alta incidência de danos na região da cintura escapular ocasionados por movimentação repetitiva. Sendo assim, longas sessões de exercícios podem acelerar o desenvolvimento de lesões musculares e articulares dificultando ainda mais a reabilitação.

Contudo, diferentes intensidades de exercício físico exercem funções reguladoras na efetividade do sistema musculoesquelético após a lesão medular, porém nada se sabe acerca dos efeitos do exercício físico realizados de maneira prévia a lesão medular aguda. Portanto, torna-se necessário investigar os efeitos de diferentes intensidades de exercício físico prévio sobre parâmetros morfofuncionais da musculatura esquelética como método alternativo na contenção e/ou instalação de um quadro hipotrófico induzido pelo desuso na lesão medular, com o propósito de elucidar possíveis estratégias para ampliar a sobrevida (com qualidade) dessa população.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem por objetivo investigar se a prática de exercícios físicos (em diferentes intensidades e realizados de modo prévio à injúria medular contusiva) exerce influência sobre parâmetros morfológicos musculoesquelético afetados no desenvolvimento da hipotrofia estabelecida na lesão medular aguda.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Averiguar os efeitos do modelo de lesão medular empregado sobre parâmetros morfológicos do tecido muscular;
2. Identificar possíveis diferenças na área de secção transversal do músculo sóleo dos animais pertencentes aos grupos controle, exercitados e acometidos pela lesão medular;
3. Quantificar o número de fibras musculares no músculo sóleo dos animais pertencentes aos grupos controle, exercitados e acometidos pela lesão medular;
4. Estimar a proporção tissular muscular e conjuntiva dos grupos;
5. Identificar possíveis substituições do tecido muscular esquelético por tecido adiposo entre os grupos controle, exercitados e acometidos pela lesão medular.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

5.1.1 Animais

Esta pesquisa foi realizada sob aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná – UFPR (nº 979) (ANEXO 1).

Foram utilizados ratos fêmeas albinos adultos da linhagem Wistar, obtidos do Biotério do Setor de Ciências Biológicas, Centro Politécnico, Curitiba, PR, com peso entre 200g e 260g – equivalente à idade aproximada de 150 dias. Os animais foram mantidos em ambiente controlado, em ciclo claro/escuro (12/12 horas), temperatura $23^{\circ}\text{C} \pm 1$, com livre acesso à comida e água.

5.1.2 Modelo e delineamento experimental

Os animais foram previamente divididos em seis grupos (FIGURA 10) segundo a variável de intensidade de exercício físico (sedentário, exercício moderado e exercício intenso). Após treze sessões de exercícios (período equivalente à um mês) intervalados por 72 horas de descanso entre cada sessão, os animais referentes aos grupos lesados medulares foram submetidos ao procedimento cirúrgico descrito por OSBORN et al. (1990) e LEMAN et al. (2000). Estes grupos foram ortotansados no 7º dia pós-lesão medular (equivalente ao período de inflamação secundária). De modo semelhante, os animais referentes aos grupos controles (hígidos) também foram ortotansados simultaneamente aos animais lesados medulares (FIGURA 11). O experimento foi realizado em triplicata, com o objetivo de aumentar a confiabilidade dos resultados.

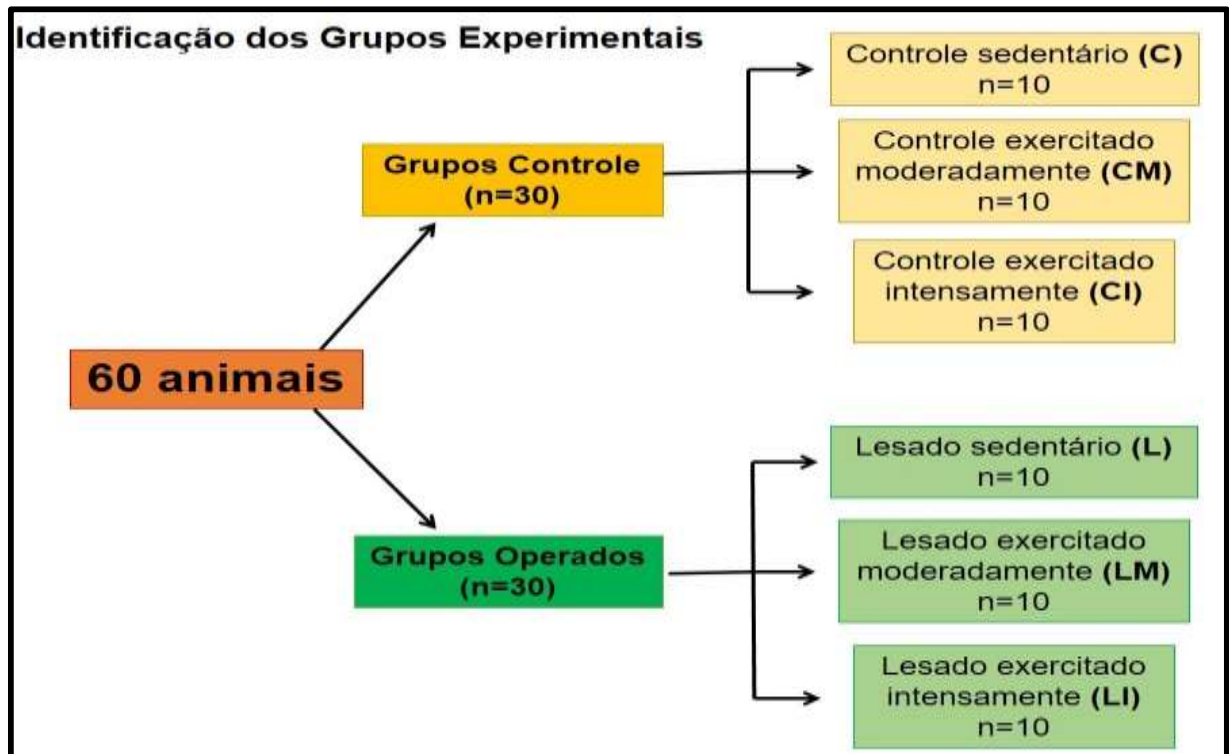


FIGURA 10 - Fluxograma de identificação dos grupos.

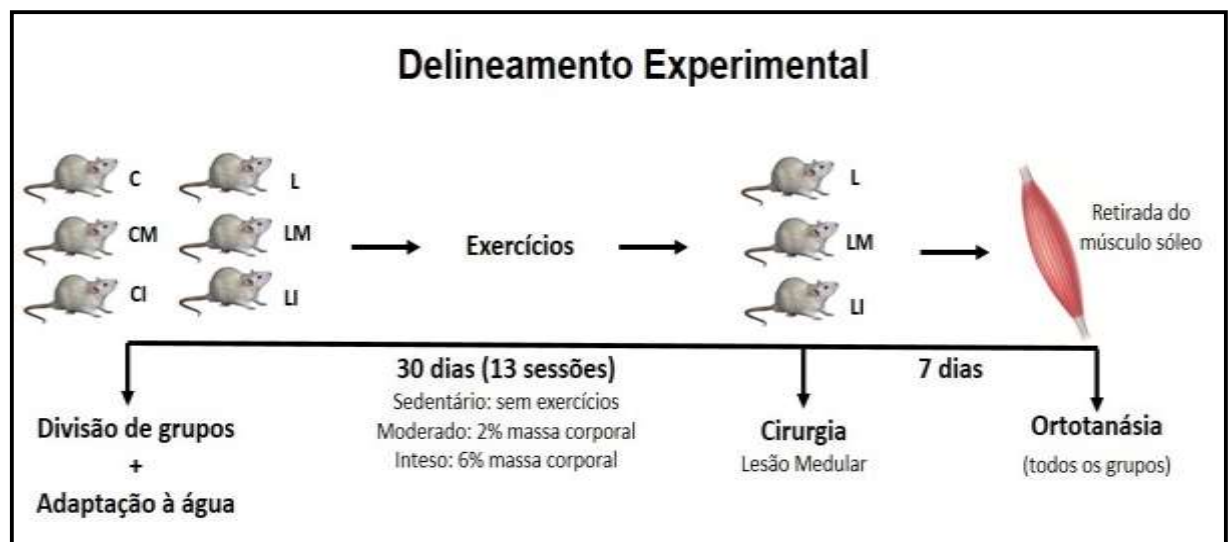


FIGURA 11 – Ilustração do delineamento e organização dos procedimentos seguidos durante o experimento.

5.1.3 Protocolo de Exercício Físico

O exercício de escolha foi a natação em piscina térmica (FIGURA 12). Antes de cada sessão, a água era aquecida à 31° C, para garantir a estabilidade térmica dos animais durante os treinos. Precedentemente às sessões de exercícios efetivos, todos os animais passaram por um período de ambientação aquática, onde permaneciam por 20 minutos na água, sem adição de carga física. A fase de adaptação teve duração de uma semana, sendo esta composta por 2 sessões adaptativas intervaladas por 48 horas de repouso.

O protocolo de exercício físico foi realizado segundo a descrição dos seguintes autores: BAZGIR et al. (2015) e HOLLOWAY et al. (2015a, 2015b). Entretanto, tais protocolos foram adaptados em estudos pilotos realizados anteriormente ao experimento devido à alguns fatores discrepantes, como sexo e peso dos animais utilizados. Desta maneira, após o período de ambientação aquática, o protocolo adaptado para atender a demanda deste experimento obedeceu às seguintes particularidades:

- **Grupos Sedentários:** nenhum exercício físico.
- **Grupos Exercitados Moderadamente:** natação com carga equivalente à 2% do peso corporal individual, com duração de 45 minutos ou até atingir fadiga muscular.
- **Grupos Exercitados Intensamente:** natação com carga equivalente à 6% do peso corporal individual, composto por 14 tiros (20 segundos de nado intenso) intervalados por 10 segundos de descanso entre cada tiro.

Posteriormente aos treinos, os animais eram secos e mantidos em ambiente aquecido até estarem aptos à retornar ao biotério.

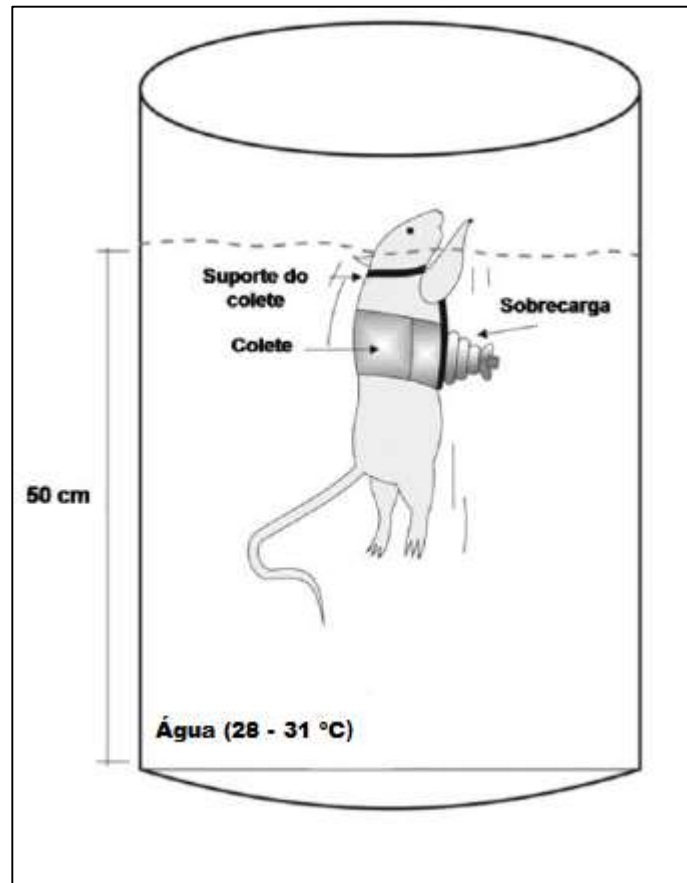


FIGURA 12 – Ilustração esquemática representando a modalidade de natação com carga em colete (Adaptado de: AGUIAR, SOUZA, VECHETTI, AGUIAR, & AGUIAR, 2011)

5.1.4 Protocolo Cirúrgico

Este protocolo de lesão medular segue a padronização conforme OSBORN et al. (1990) e LEMAN et al. (2000), assim como as normas de pré e pós-operatório do *Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study* (MASCIS).

Os animais foram anestesiados via intraperitoneal com *Ketamina* e *Xylazina*, na proporção de 70 mg/ Kg (i.p.) e 0,5 mg/Kg (i.p.), respectivamente. Após verificação da completa ação anestésica, os ratos foram acomodados em campo cirúrgico com ambiente aquecido (33 – 35°C), onde foram submetidos à tricotomia na região cervical e torácica (FIGURA 13A), e antisepsia local com solução de polivinil pirrolidona iodo (PVPI). Em seguida, realizou-se a identificação da região tóraco-lombar (FIGURA 13B) e foi realizada a administração subcutânea de anestésico local e vasoconstritor

(cloridrato de lidocaína 2% + epinefrina 1:50000). Posteriormente, uma incisão de aproximadamente 5 cm de pele e subcutâneo sob a linha média da região cervical foi feita, seguindo-se do afastamento subperiosteal da musculatura paravertebral até a coluna vertebral ficar exposta (área referente às vértebras T9 – T10) (FIGURA 13C). Com o auxílio de um alicate cirúrgico e uma pinça “dente de rato” laminectomia foi realizada, na qual retirou-se os processos espinhosos e parte do corpo vertebral expondo a medula (FIGURA 13D). Após este processo, foi empregado o modelo de lesão medular compressiva através do aparelho *NYU Impactor*. O Impactor utiliza a técnica “*weight drop*”, em que um pino de alumínio (10 g) é solto no local de exposição medular, sob distância e velocidade controlada, gerando a lesão. Posteriormente, tanto a musculatura dorsal quanto a pele foram suturadas.

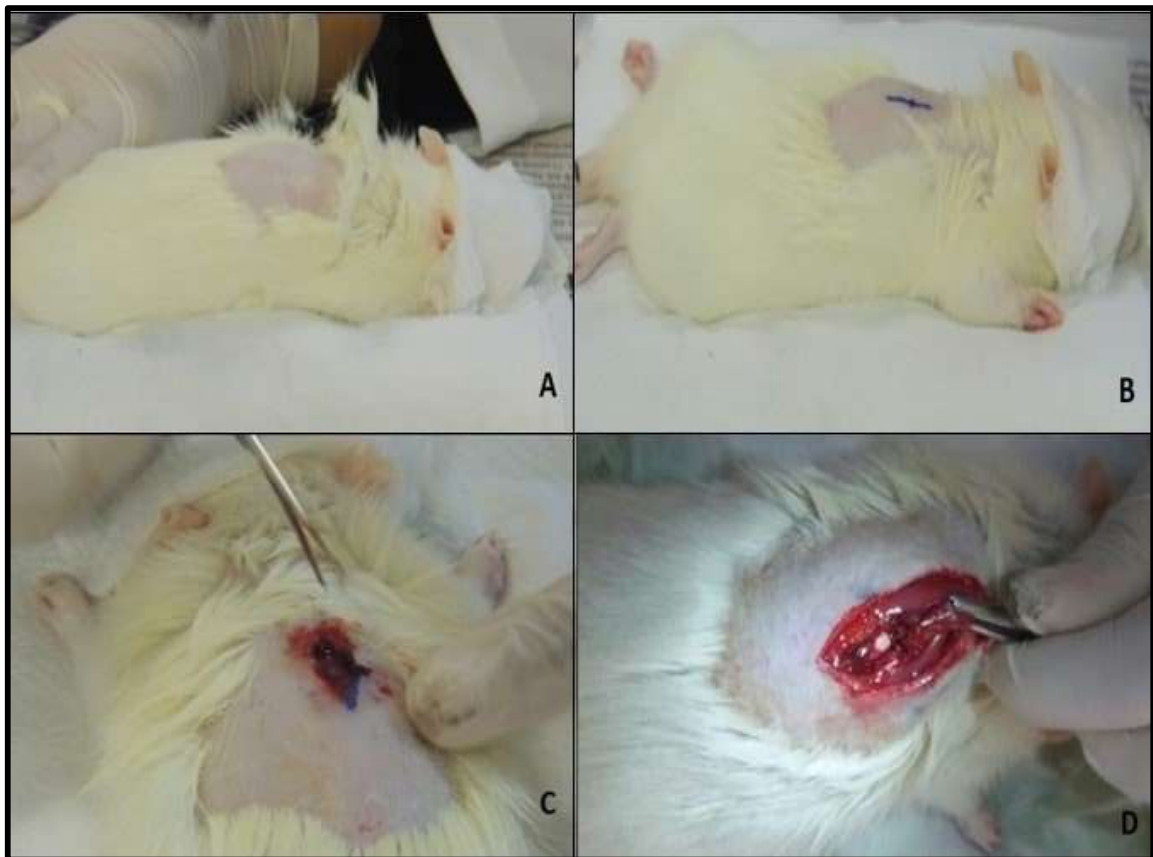


FIGURA 13 – Protocolo cirúrgico prévio à técnica de *weight drop* pelo aparelho *NYU Impactor*. A) tricotomia em região dorsal do animal; B) Identificação das vértebras T9 e T10; C) incisão sob a linha média da região cervical e afastamento da musculatura paravertebral; D) laminectomia e exposição da medula espinhal (Fonte: A autora, 2017).

5.1.5 Pesagem Corporal

Invariavelmente, todos os animais foram pesados em balança digital, utilizando – se do modelo Urano UDI 10000/1, durante todo o período de experimento, obedecendo à intervalos de 48 horas, até o dia da ortotanásia. Os resultados foram expressos em porcentagem.

5.2 AVALIAÇÃO MOTORA

Comportamento motor

O comportamento motor dos membros inferiores (quadril, joelho e tornozelo) foi avaliado utilizando o protocolo desenvolvido por Basso Beattie and Bresnahan (BBB) que consiste em uma escala de 21 pontos, em campo de observação (BASSO, BEATTIE et al. 1995). Dois observadores treinados participaram de cada sessão de teste e foram posicionados de forma a permitir a observação de cada lado do animal através do campo de observação. Cada animal foi avaliado 24 horas, 48 horas, 72 horas e 7 dias após a lesão medular e as sessões individuais duraram 4 minutos, para minimizar o risco de não observar movimentos importantes. Os animais que permaneceram imóveis por mais de 15 a 20 segundos foram estimulados por leves batidas na parte externa do campo de observação. Caso não respondesse ao estímulo, o animal era posicionado pelos avaliadores no centro do campo, cuidadosamente, para que não houvesse toque na cauda ou nos membros posteriores do animal, já que isto pode influenciar o desempenho locomotor (BASSO, BEATTIE et al., 1995). O score diário foi atribuído pela média de pontuação obtida de cada um dos membros posteriores (esquerdo e direito).

Nas figuras 14 e 15 pode-se observar a irradiação do dano tissular nervoso decorrente da contusão após 7 dias da lesão inicial.



FIGURA 14 – Medula espinhal após 7 dias de lesão por contusão. Nota-se um estreitamento no diâmetro medular na região correspondente ao sítio da injúria.

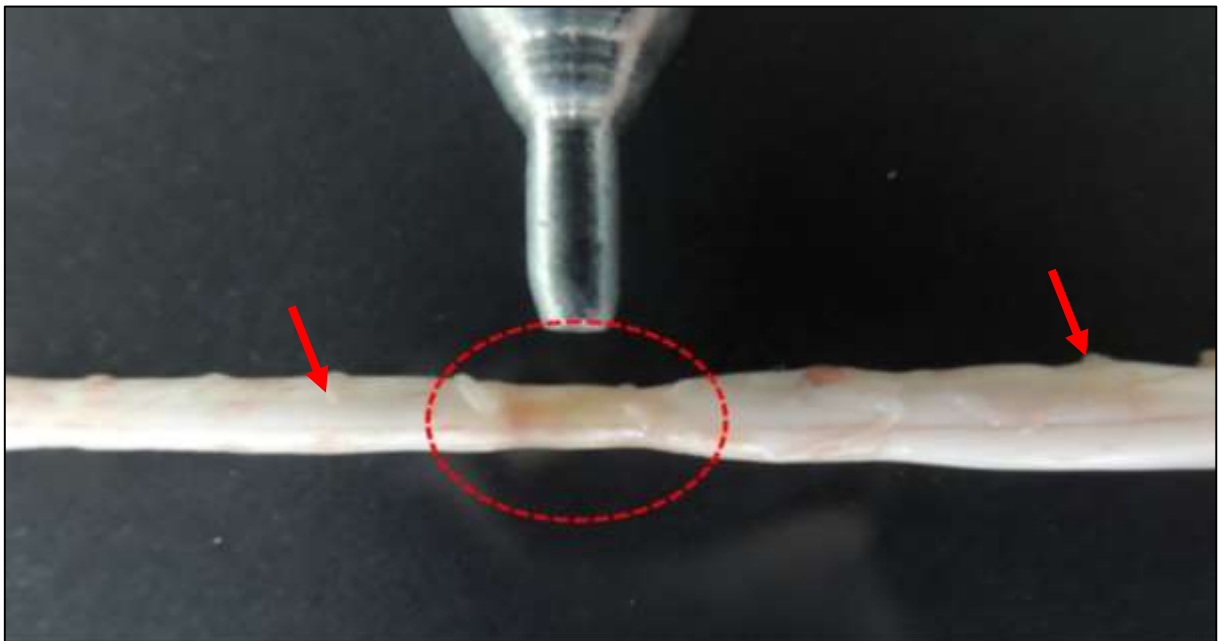


Figura 15 – Medula espinhal lesionada após 7 dias de lesão por contusão. É possível verificar a formação de um dano difuso no sítio da injúria característico de lesões medulares decorrentes de contusões. A estrutura metálica visualizada na imagem pertence ao aparelho (*Impactor*) empregado para a realização da técnica contusiva. Outras estruturas a serem observadas são os cotos dos nervos espinhais que sofreram retração após a dissecação do animal (setas).

5.3 PESO DO MÚSCULO SÓLEO

Após a ortotanásia e dissecação, foi realizada a coleta do tecido muscular e a massa úmida foi mensurada logo após a coleta. A massa úmida foi mensurada e expressa em gramas. Após estes procedimentos, os músculos foram encaminhados para o preparo histológico.

5.4 HISTOLOGIA MUSCULAR

Após a pesagem do muscular, realizou-se a fixação em ALFAC por 24 horas e desidratação em etanol 80%, ambas as etapas em temperatura ambiente. A seguir as amostras foram emblocadas em paraplast, seccionadas (espessura de 5 μm) e coradas com Tricrômico de Masson. Posteriormente, executou-se avaliação histomorfométrica da área de secção transversal do músculo sóleo (AST_{ms}), da área de secção transversal das fibras musculares (AST_{fm}) e contagem do número de fibras musculares em 50 μm . As fotomicrografias dos cortes histológicos foram realizadas em microscópio de luz (Axyophot, Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) e capturadas em sistema de vídeo-imagem (Applied Spectral Imaging, Migdal Ha'emek, Israel) por meio do programa Case Data Manager Expo (Applied Spectral Imaging, Migdal Ha'emek, Israel, 4.0) no Departamento de Pós-graduação em Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Em cada músculo foi mensurado a AST_{ms} , a AST_{fm} e o número de fibras musculares com o auxílio do software *Image J* (desenvolvido pelo *National Institute of Health*, Bethesda, Maryland, EUA). Foi mensurada a área de secção transversal de cem fibras musculares de cada músculo, escolhidas aleatoriamente da região central da secção histológica (COUTINHO et al., 2004; COUTINHO et al. 2006).

5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média e foram submetidos à análise de variância de uma via (*One-way Anova*) seguido de pós-teste de Tukey e, se necessário Teste t, com nível de significância para $p < 0,05$. As análises

foram escolhidas de acordo com as comparações realizadas entre os grupos experimentais.

6 RESULTADOS

6.1 ANÁLISE MOTORA

Com o propósito de estimar a eficiência da contusão realizada pelo método de “*drop weight*” em reproduzir lesões medulares homogêneas e com grau de comprometimento locomotor semelhante, a atividade motora da tríade articular posterior (quadril, joelho e tornozelo) dos animais operados foi avaliada através da escala BBB (Basso, Beattie e Brenahan). Conforme dados de identificação apresentados na figura 10, foi possível avaliar que a lesão medular produziu uma deficiência motora acentuada nos animais, identificada pela ausência de movimento dos membros posteriores 24 horas após a cirurgia, e que, na maioria dos animais, estendeu-se até o dia da ortotanásia (7º dia após o procedimento cirúrgico).

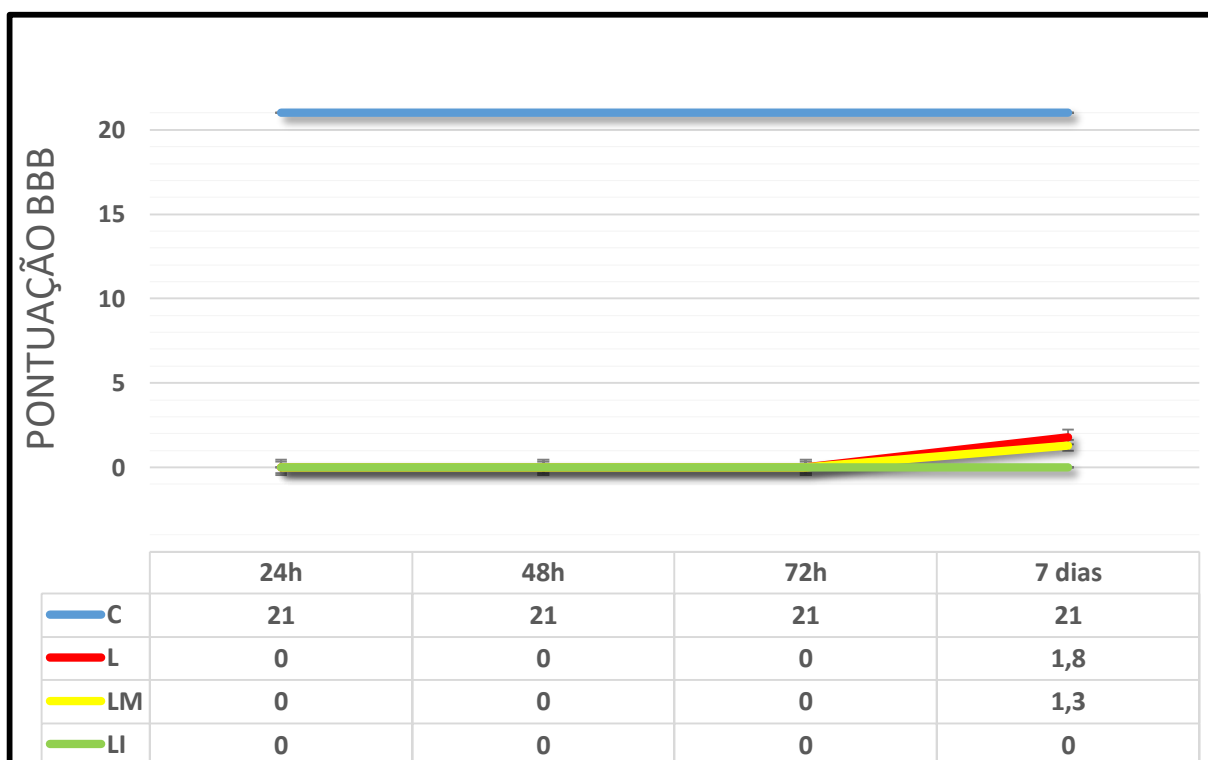


FIGURA16 - Presença de movimentos dos membros posteriores em animais submetidos a lesão medular e avaliados pela escala BBB. A pontuação 21 equivale a atividade normal da tríade articular, em contrapartida, a pontuação zero equivale a ausência de movimentação. Abreviaturas: controle (C), lesado (L), lesado exercitado moderadamente (LM), lesado exercitado intensamente (LI).

6.2 ANÁLISE MORFOLÓGICA

6.2.1 Variação de Massa Corporal

A figura 17 demonstra as variações da massa corporal dos animais durante o desenvolvimento dos respectivos protocolos de exercício, durante as 4 semanas de exercício. Posteriormente, na quarta semana, observou-se que no intervalo de 48 horas após a lesão, ocorreu um declínio progressivo da massa corporal, sendo que ao final de 96 horas após a lesão o grupo que apresentou menor massa corporal foi o grupo L (cerca de 11%). Os grupos LM e LI também apresentaram redução da massa após a injúria de aproximadamente 8 % e 6% respectivamente.

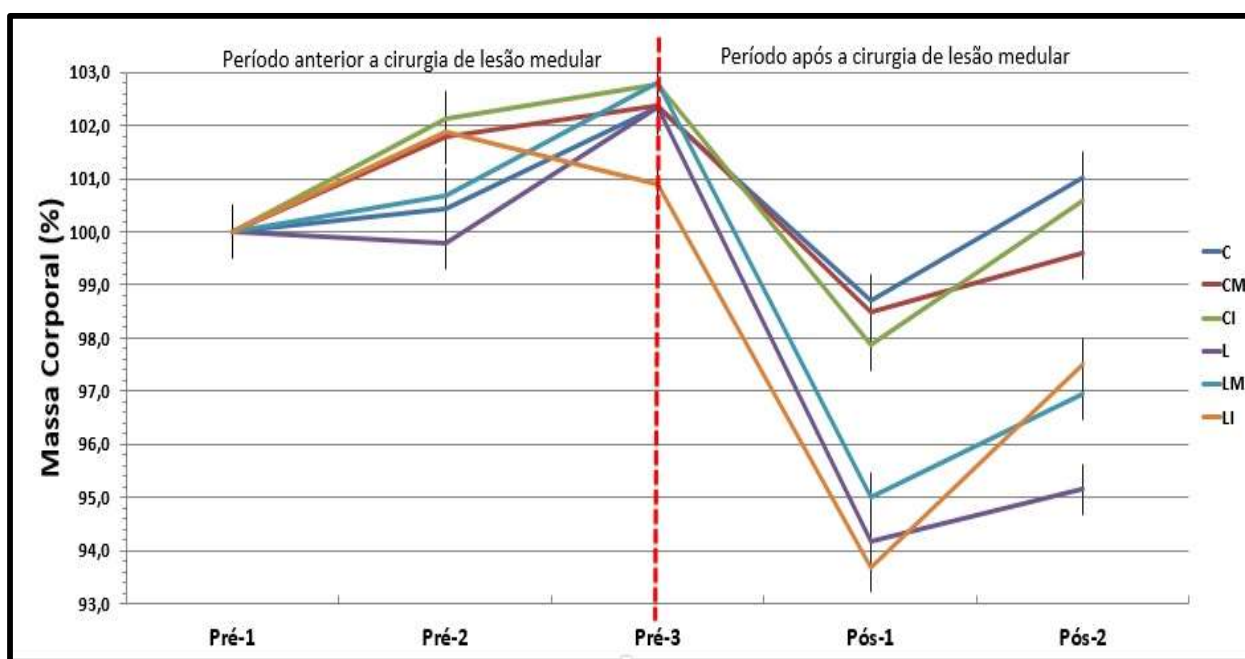


FIGURA 17 – Gráfico representativo da variação de massa corporal dos grupos ao longo dos treinos e após a lesão medular. Abreviaturas: controle (C), controle exercitado moderadamente (CM), controle exercitado intensamente (CI), lesado (L), lesado exercitado moderadamente (LM), lesado exercitado intensamente (LI).

6.2.2 Massa Muscular Úmida

Para esta análise utilizou-se dados obtidos através da pesagem do músculo sóleo após a dissecação.

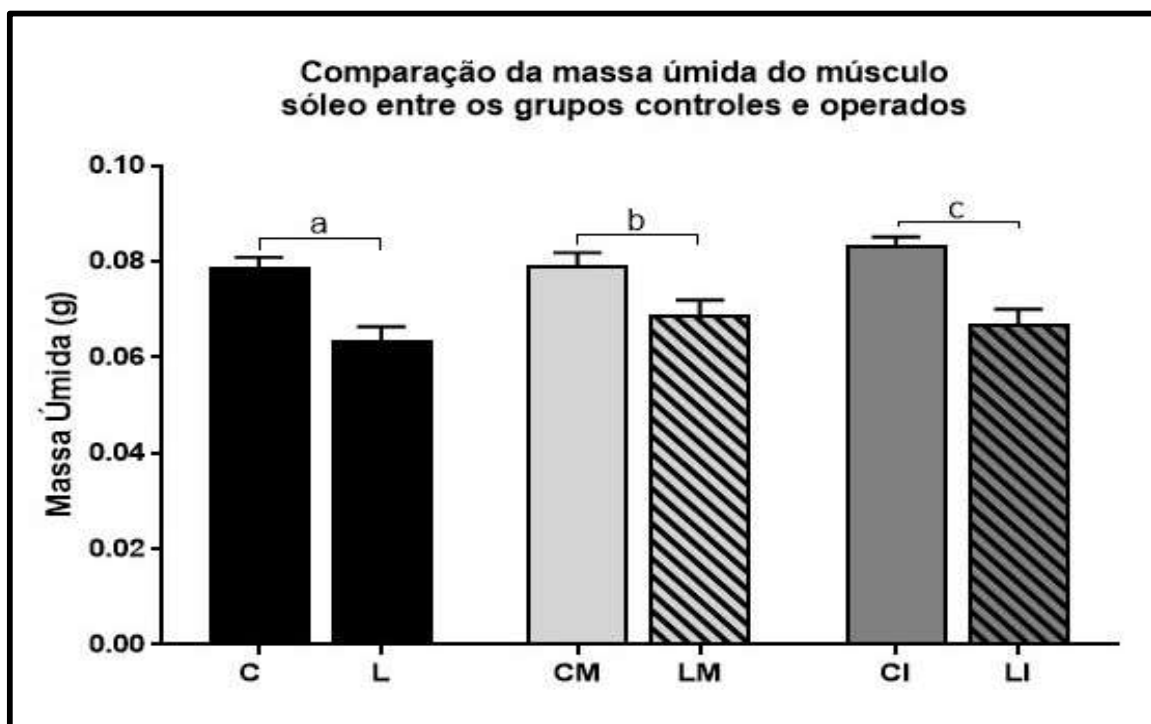


FIGURA 18 - Análise estatística (Teste T) da massa úmida do músculo sóleo. Abreviaturas: controle (C) (0,078±0,002), lesado (L) (0,063±0,003), controle exercitado moderadamente (CM) (0,078±0,003), lesado exercitado moderadamente (LM) (0,068±0,003), controle exercitado intensamente (CI) (0,082±0,002), lesado exercitado intensamente (LI) (0,066±0,003); a: C>L (p<0,001); b: CM>LM (p<0,05); c: CI>LI (p<0,001).

Após a lesão medular identificou-se redução significativa da massa muscular nos animais submetidos à lesão em relação aos seus controles, independente da intensidade do exercício físico realizado previamente. Análise de variância de uma via (*One-way Anova*) também foram realizadas entre as subdivisões pertencentes aos grupos de animais controles e operados. Contudo, estas análises não demonstraram significância. Assim sendo, observou-se que as diferentes intensidades de exercício físico realizados durante 13 sessões de natação, não exerceu influência sobre a massa muscular úmida avaliada nos animais.

A figura 18 apresenta as análises do peso úmido do músculo sóleo dos animais operados e de seus respectivos controles.

6.2.3 Análise morfométrica do músculo sóleo

Área de secção transversal das fibras musculares (AST_{fm})

A área de secção transversal da fibra muscular (AST_{fm}) corresponde ao diâmetro das fibras musculares. Esta variável pode ser influenciada pelo exercício físico e pela hipotrofia muscular decorrente da lesão.

A comparação da AST_{fm} diante das diferenças de intensidades de exercício físico são apresentadas na figura 19. Na figura 19A pode-se verificar a análise realizada entre os animais controle, sendo que o grupo CM apresenta fibras musculares de maior diâmetro quando comparado ao grupo C e CI ($CM > C$, $CM > CI$, $C > CI$). Curiosamente, a análise dos animais submetidos à lesão medular, mostra que o exercício prévio é capaz de reduzir a AST_{fm} para fibras musculares nos grupos lesados, de maneira que grupo L (não exercitado) apresenta fibras de diâmetro maior em relação aos grupos LM e LI ($L > LM$, $L > LI$) (FIGURA 19B).

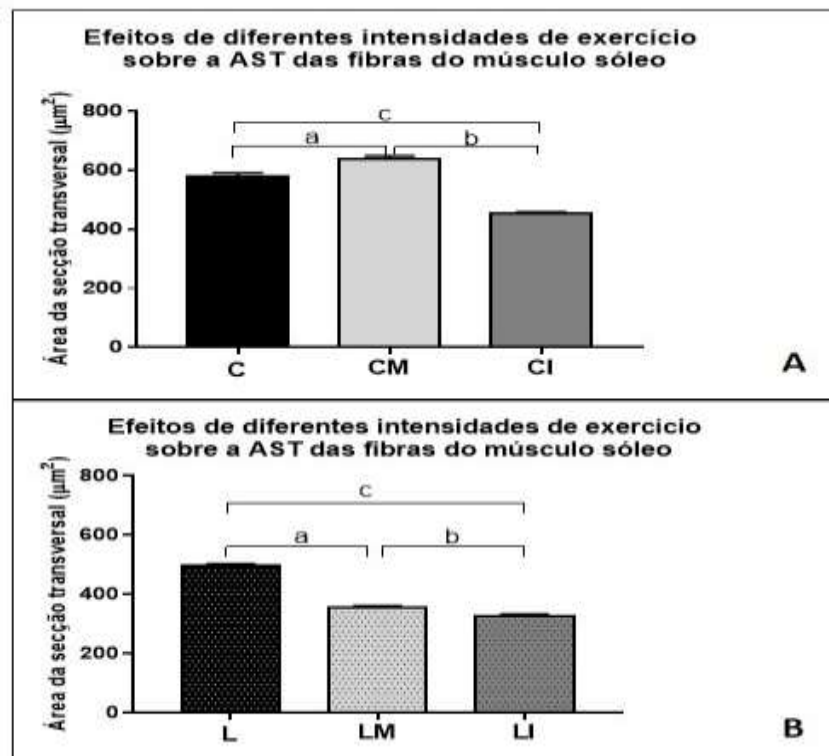


FIGURA 19 – Análise estatística (*One-way Anova*) da área de secção transversal das fibras musculares (sóleo). Abreviaturas: Figura 19A) controle (C) ($581 \pm 10,09$), controle exercitado moderadamente (CM) ($636,9 \pm 12,34$), controle exercitado intensamente (CI) ($452,5 \pm 5,6$), a= $C > CM$ ($p < 0,005$), b= $CM > CI$ ($p < 0,001$), c= $C > CI$ ($p < 0,001$); Figura 19B) lesado (L) ($497,3 \pm 5,57$), lesado exercitado moderadamente (LM) ($357 \pm 3,72$), lesado exercitado intensamente (LI) ($326,7 \pm 6,8$), a= $L > LM$ ($p < 0,001$), b= $LM > LI$ ($p < 0,001$), c= $L > LI$ ($p < 0,005$).

A comparação da AST_{fm} entre os animais controle *versus* animais operados são demonstrados na figura 20. Esta análise demonstra a hipotrofia muscular induzida pela lesão medular. As fibras do músculo sóleo, em todos os grupos lesados apresentaram AST_{fm} significativamente menores que seus respectivos grupos controle.

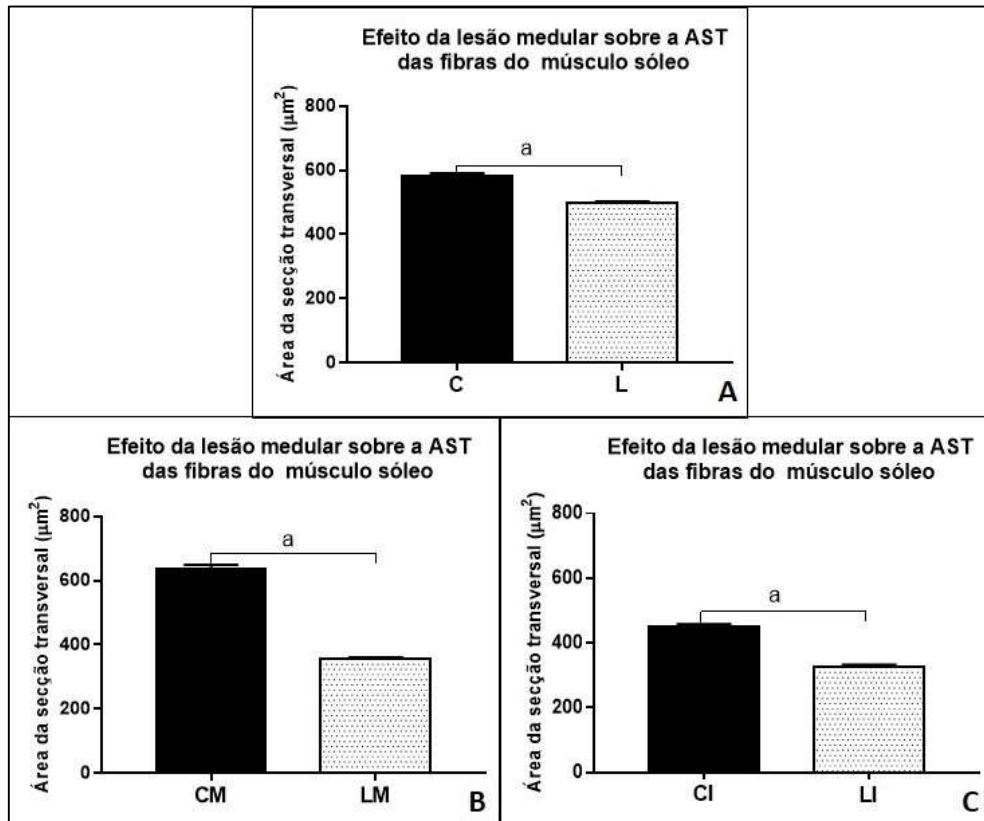


FIGURA 20 – Análise estatística (Teste T) comparando a área de secção transversal das fibras musculares entre grupos controles e operados. Abreviaturas: Figura 20A) controle (C) ($581 \pm 10,09$), lesado (L) ($497,3 \pm 5,57$), $a = C > L$ ($p < 0,001$); Figura 20B) controle exercitado moderadamente (CM) ($636,9 \pm 12,3$), lesado exercitado moderadamente (LM) ($357 \pm 3,7$), $a = CM > LM$ ($p < 0,001$); Figura 20C) controle exercitado intensamente (CI) ($452,5 \pm 5,6$), lesado exercitado intensamente (LI) ($326,7 \pm 6,85$), $a = CI > LI$ ($p < 0,001$).

Área de secção transversal do músculo sóleo (AST_{ms})

A área de secção transversal do músculo sóleo (AST_{ms}) corresponde ao diâmetro do grupamento muscular. De maneira semelhante ao encontrado na mensuração da AST_{fm} , esta mensuração, sugere que a lesão medular foi capaz de reduzir a AST do músculo sóleo mesmo nos animais previamente exercitados

(C>CM>CI) (FIGURA 21A). Um achado interessante, foi o efeito do exercício sobre esta variável. Foi possível identificar que o grupo submetido ao protocolo de exercício moderado, apresentou AST_{ms} significativamente maior que o grupo lesado (FIGURA 21B). A comparação entre o grupo submetido ao exercício intenso induziu redução acentuada na AST_{ms} , quando comparado ao grupo exercitado moderado e ao grupo lesado ($L < LM$, $LM > LI$). Em conjunto estes dados sugerem que a intensidade do exercício físico, pode prevenir ou acentuar a hipotrofia induzida pela lesão medular. Análises comparativas (Teste T) entre os grupos dos animais controles (C, CM e CI) *versus* seus respectivos grupos operados (L, LM e LI) também foram realizadas. Entretanto, tais análises não demonstraram significância.

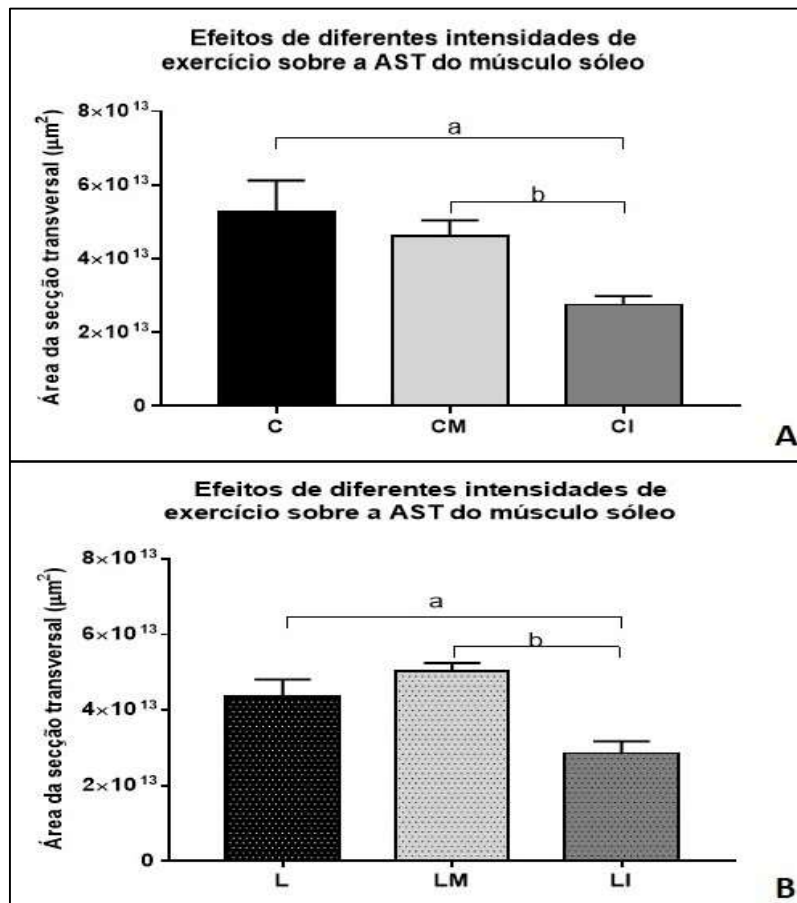
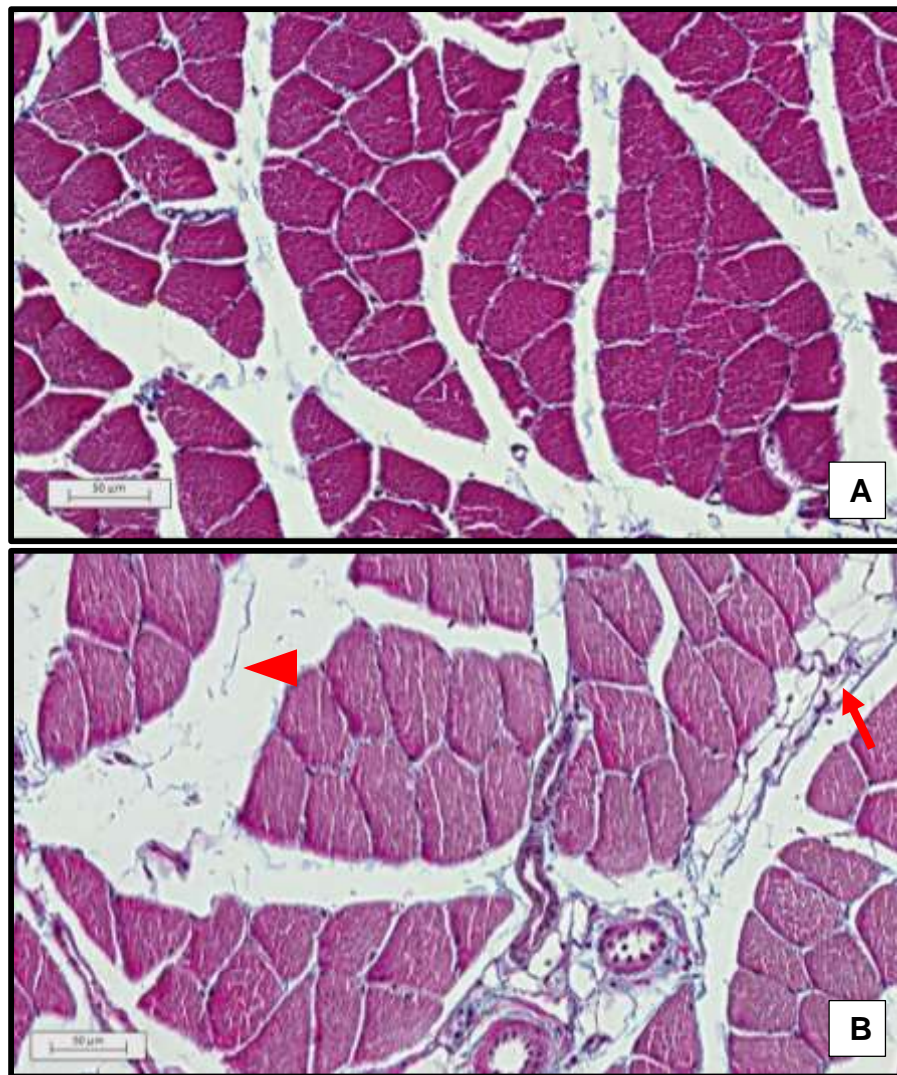
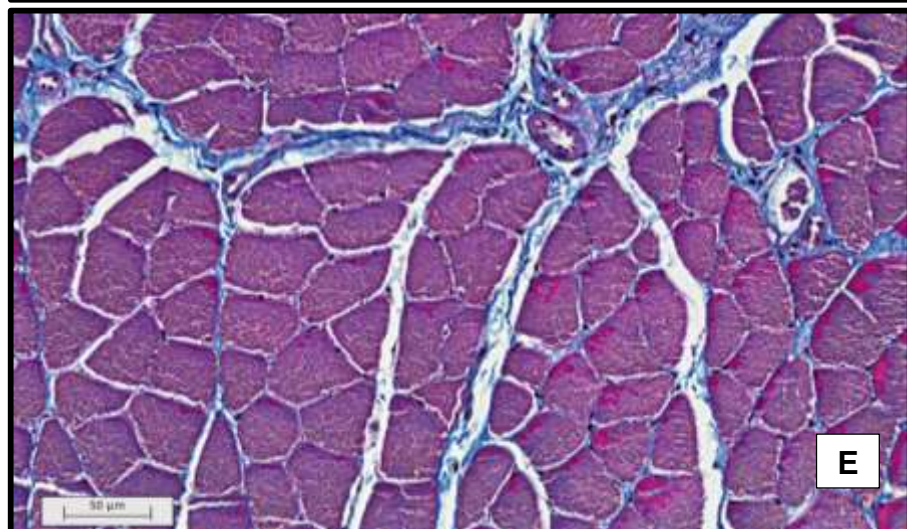
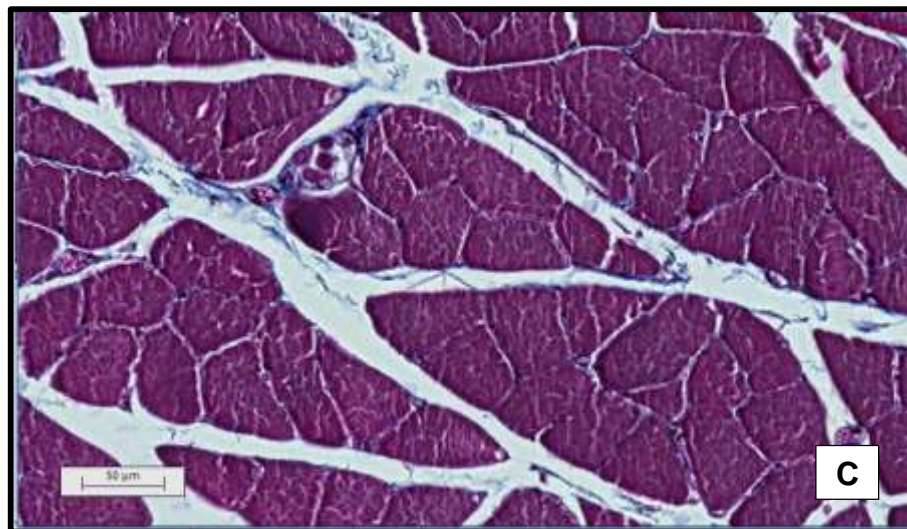


FIGURA 21 – Análise estatística (*One – way Anova*) da área de secção transversal do músculo sóleo. Abreviaturas: Figura 21A) controle (C) ($5,25 \times 10^{13} \pm 8,68 \times 10^{12}$), controle exercitado moderadamente (CM) ($4,61 \times 10^{13} \pm 4,27 \times 10^{12}$), controle exercitado intensamente (CI) ($2,74 \times 10^{13} \pm 2,35 \times 10^{12}$), a= C>CI ($p < 0,05$), b= CM>CI ($p < 0,05$); Figura 21B) lesado (L) ($4,35 \times 10^{13} \pm 4,55 \times 10^{12}$), lesado exercitado moderadamente (LM) ($5,03 \times 10^{13} \pm 2,12 \times 10^{12}$), lesado exercitado intensamente (LI) ($2,85 \times 10^{13} \pm 3,21 \times 10^{12}$), a= L>LI ($p < 0,05$), b= LM>LI ($p < 0,005$).

A observação microscópica das fibras também permitiu evidenciar o efeito do exercício físico sobre a disposição de fibras colágenas nos envoltórios musculares (perimísio e endomísio). Através da coloração Tricrômico de Masson, usada para evidenciar a presença de fibras colágenas (coradas em azul), sugere-se que o exercício intenso provoca aumento da espessura do endomísio (FIGURA 22). Para confirmação deste dados, são necessárias mensurações que não foram inclusas nos objetivos deste trabalho.





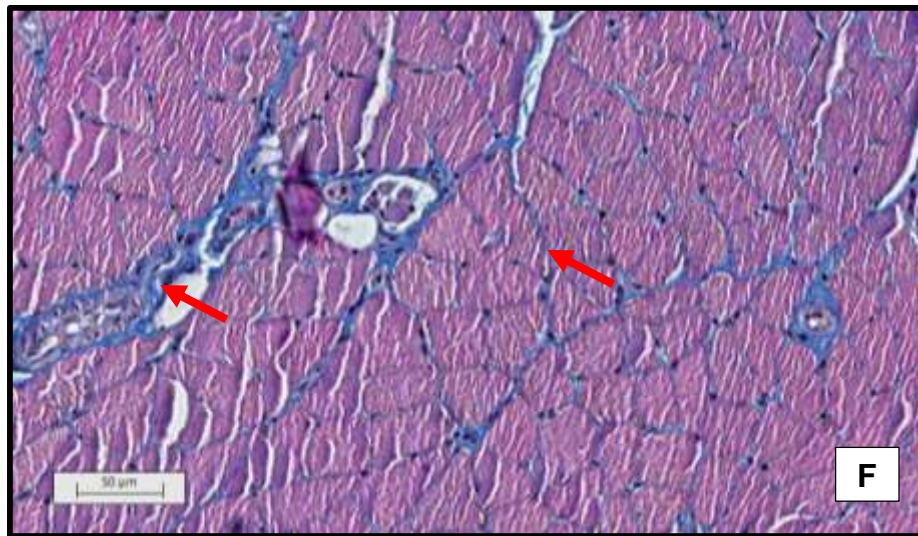


FIGURA 22 – Imagens da fotomicrografia das miofibras dos grupos controles e dos grupos operados. Legendas: 22A) Controle ; 22B) Lesado – formação de tecido adiposo (seta) e adensamento de tecido conjuntivo (cabeça de seta); 22C) Controle exercitado moderadamente; 22D) Lesado exercitado moderadamente; 22E) Controle exercitado intensamente; 22F) lesado exercitado intensamente (depósito de tecido colágeno em endomísio e perimísio (setas). Barra de escala = 50 μ m.

Número de fibras

A contagem do número de fibras revelou que a lesão medular não provocou alteração no número de fibras musculares, quando comparado ao controle. Entretanto a comparação do número de fibras nos grupos submetidos ao exercício físico, sugere o aumento do número de fibras nos animais submetidos ao exercício, independente da intensidade, quando comparado ao grupo lesado (FIGURA 23B). A figura 23A, apresenta o efeito do exercício sobre a mesma variável. Os dados sugerem que o exercício intenso foi hábil em aumentar o número de fibras, quando comparado aos grupos controle e exercício moderado.

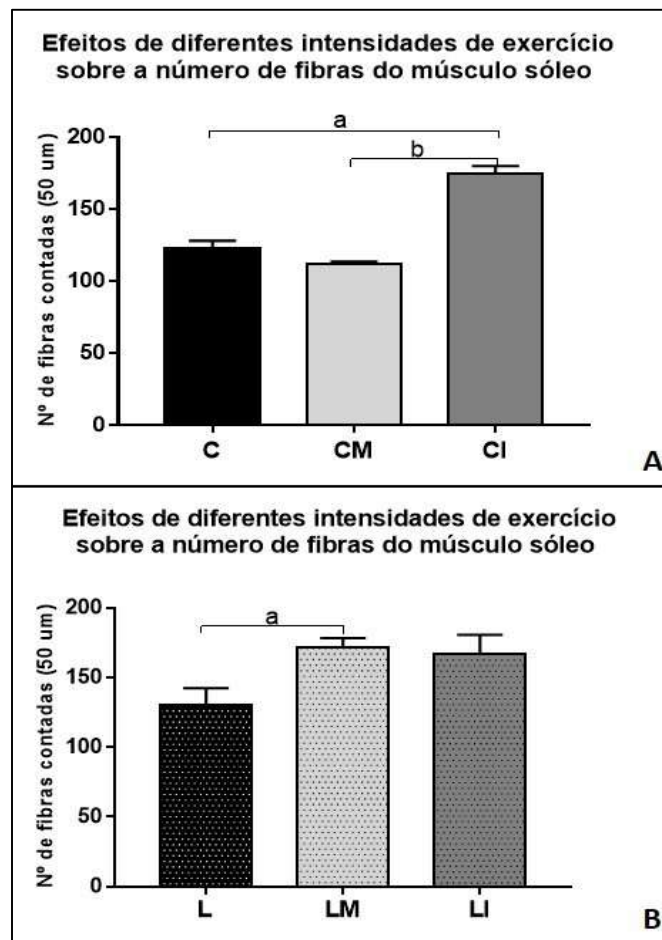


FIGURA 23 – Gráfico representativo do número de fibras contadas em aumento de 50x. Abreviaturas: Figura 30A) controle (C) ($123 \pm 5,06$), controle exercitado moderadamente (CM) ($112 \pm 1,4$), controle exercitado intensamente (CI) ($174,3 \pm 5,5$), $a = CI > C$ ($p < 0,001$), $b = CI > CM$ ($p < 0,001$); Figura 30B) lesado (L) ($130,5 \pm 11,96$), lesado exercitado moderadamente (LM) ($171,4 \pm 6,9$), lesado exercitado intensamente (LI) ($167 \pm 13,6$), $a = LM > L$ ($p < 0,05$).

A perda de células musculares, por necrose, inflamação e apoptose, também contribuem para hipotrofia. Com a perda gradual de proteínas contráteis do interior da célula muscular, a miofibrila tende a reduzir sua AST. Consequentemente, pode-se visualizar um maior número de fibras musculares com menor diâmetro dentro de uma determinada barra de escala, direcionando erroneamente para uma aparente hiperplasia. Assim sendo, foi realizada uma normalização dos dados obtidos pela média total do número de fibras contadas através do emprego da seguinte fórmula:

nº. fibras contadas x ASTms/ valor do frame

FIGURA 24 – Cálculo usado para estimar o número total de fibras do músculo sóleo. Em cada grupo experimental a média final do número de fibras contada em $50 \mu\text{m}^2$ foi multiplicada pelo valor da média final da AST_{ms} correspondente ao grupo analisado. Então, o resultado obtido foi dividido pelo valor do frame utilizado na contagem ($50 \mu\text{m}^2$).

Desta maneira obteve-se os valores dispostos na tabela a seguir:

	Controle	Lesado	Controle Exercitado Moderado	Lesado Exercitado Moderado	Controle Exercitado Intenso	Lesado Exercitado Intenso
Fibras/ μm^2	2,46/ μm^2	2,6/ μm^2	2,24/ μm^2	3,42/ μm^2	3,48/ μm^2	3,34/ μm^2
Fibras Totais	129×10^{12}	112×10^{12}	103×10^{12}	172×10^{12}	94×10^{12}	95×10^{12}

TABELA 3 – Estimativa do número de fibras contidas na AST_{ms} e número de fibras em um μm^2 .

7 DISCUSSÃO

A lesão medular é uma patologia neurológica severa e incapacitante, que provoca redução significativa da longevidade, qualidade de vida e produtividade do indivíduo (DORNELLES SCHOELLER et al., 2016; HORN et al., 2013; KRASSIOUKOV, FURLAN & FEHLINGS, 2003; SEZER, AKKUŞ & UĞURLU, 2015). Os efeitos deletérios sistêmicos gerados pela lesão medular são os principais causadores do desenvolvimento de comorbidades secundárias que dificultam a reabilitação após o trauma. Entretanto, hábitos prejudiciais, como sedentarismo, obesidade e má alimentação, adotados anteriormente ao trauma podem exercer efeito catalizador para o aumento da susceptibilidade à outras patologias (GROAH et al., 2012; SILVA, TIRAPGUI, PIRES & RIBEIRO, 2004; TANHOFFER, 2016).

Visto que a atividade física exerce ação positiva sobre a musculatura de pessoas com lesão medular após o trauma e que a hipotrofia musculoesquelética acarreta prejuízos na qualidade de vida destes indivíduos, este trabalho buscou comparar os efeitos da lesão medular sobre parâmetros morfométricos no músculo de animais exercitados previamente à lesão medular.

A análise do comportamento motor foi feita mediante o emprego da escala BBB. Nos períodos de 24 horas, 48 horas, 72 horas e 7 dias após a lesão medular avaliou-se os parâmetros descritos na ficha de análise. Durante os quatro dias de avaliação, verificou-se que os procedimentos adotados para causar a contusão medular, produziram lesões homogêneas quanto ao nível neurológico comprometido. Cerca de 93% dos animais operados demonstraram ausência de movimentos voluntários na tríade articular posterior e, conseqüentemente, receberam classificação zero na escala BBB. Este comportamento motor, corresponde à paraplegia completa (BASSO, BEATTIE et al., 1995). Os outros 7% dos animais operados apresentaram preservação de poucos movimentos posteriores voluntários no decorrer de uma semana e foram excluídos do estudo. Já o animais pertencentes aos grupos controles foram classificados com 21 pontos na escala BBB, visto que estes exibem movimentação padrão durante todos os dias de avaliação (FIGURA 16) (BASSO, BEATTIE et al., 1995).

Sabe-se que diante de uma lesão, o SNC exibi pouca regeneração. Por exemplo, após uma axotomia (transecção do axônio por corte ou por esmagamento)

o axônio é dividido em dois segmentos: um proximal conectado ao corpo neuronal e outro distal. Neste último, ocorre uma degeneração física, que por sua vez desencadeia respostas reativas em células circunvizinhas como os oligodendrócitos, micróglias e astrócitos. Os cotos proximais dos axônios lesionados podem apresentar brotamentos curtos, formando terminais que tornam-se edemaciados e são impossibilitados de progredir, são chamados “bulbos de retração” (KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSELL, 2014).

Contudo, segundo estudos de Rossignol (2011) e Martinez (2013), sugerem uma possibilidade alternativa. Em teoria, dependendo da severidade da lesão medular, as vias neuronais descendentes remanescentes podem redirecionar os mecanismos espinhais para uma via secundária, promovendo uma reorganização dos circuitos medulares geradores de padrão de passos. Estes circuitos neuronais são capazes de gerar padrões rítmicos e ativam neurônios motores localizados inferiormente ao nível medular lesionado, contribuindo para movimentação alternada da tríade articular inferior (MARTINEZ et al. 2013; ROSSIGNOL et al. 2011).

Desta maneira, como obtivemos uma prevalência de animais com severa paraplegia e o método utilizado para o desenvolvimento da lesão contusiva não utilizou a interrupção completa da medula através da transceção, sugere-se que vias neuronais remanescentes podem ter interferido na flexão e extensão das articulações do quadril, joelho e tornozelo observado nos animais que apresentaram preservação de movimentos limitados após sete dias de lesão medular.

Há duas importantes particularidades que desdobram-se na lesão medular humana que fundamentam a escolha por este modelo experimental. A primeira particularidade é a observação progressiva da neuroinflamação que se desenvolve ao longo do tempo, tendo um início como uma fase primária de alastramento das zonas de necrose, edema e hemorragia, evoluindo para a fase intermediária de tentativa de reparo parcial e reestruturação tissular (NUNES, 2017). A finalização do estabelecimento da lesão, caracteriza-se pela fase de crônificação onde frequentemente ocorre a formação de cavidades císticas e cicatrização glial no parênquima neural. Este padrão estabelecido entre a maturação da lesão em função do tempo é bem simulado na medula espinhal de animais após lesão e possibilita o enquadramento avaliativo de novas terapias visando a neuroproteção durante o período de maior dano contusivo (BRESNAHAN, BEATTIE, STOKES, & CONWAY,

1991; BRODBELT et al., 2003; GUIZAR-SAHAGUN et al., 1994; YANG, JONES, STOODLEY, BLUMBERGS, & BROWN, 2001) .

A segunda particularidade a respeito de lesões medulares é que, mesmo em casos de paraplegia completa após uma lesão contusiva, a medula raramente é seccionada por completo (BUNGE, PUCKETT, BECERRA, MARCILLO, & QUENCER, 1993; JIANG, DAI, & JIANG, 2006; KWON et al., 2002; PIAO, LEE, JANG, KIM, & KIM, 2009). Lesões espinhais por contusão são irradiadas (FIGURA 14 e 15) e, na maioria dos casos, um pequeno número de filamentos neurais permanece intactos ao longo de uma borda periférica (HULSEBOSCH, 2002; NUNES et al. 2017). A quantidade de tecido neuronal remanescente e a localização dos tratos espinhais danificado estão relacionados à preservação da função locomotora (KWON et al., 2002; FORNER, 2015; ROSSIGNOL et al., 2008; ROSSIGNOL, BARRIÈRE, ALLUIN, & FRIGON, 2009).

As análises morfométricas evidenciam uma importante alteração na massa corporal dos animais após a lesão medular. Na figura 17 pode-se identificar variações no peso dos animais ao longo das quatro semanas de treinamento, porem acréscimo de massa corporal foi considerado insignificante (entre 2% e 4%). Por outro lado, os animais submetidos a lesão medular demonstraram intensa perda de massa após o protocolo cirurgico em comparação aos animais hígidos. De fato, a massa corporal dos animais hígidos manteve-se relativamente constante após o treinamento. Já nos grupos submetidos à lesão medular (L, LM, LI) a perda de massa alcançou cerca de 10% ($p < 0,005$) no grupo L. Esta significativa diminuição do peso representa a dramática repercussão da lesão medular sobre a composição corporal dos animais operados em virtude da desnervação causada pela contusão medular (DURIGAN et al. 2006, FERREIRA et al. 2004). Como resultado deste processo, observa-se paralisia dos membros inferiores inervados pelo segmento da medula comprometido no procedimento cirúrgico (Figura 14 e 15). Nos grupos LM e LI a perda de massa corporal alcançou cerca 6% em relação ao peso pré-cirurgia ($p < 0,0005$ e $p > 0,005$, respectivamente). Estes dados sugerem que, aparentemente, o exercício prévio ao trauma medular, seja ele moderado ou intenso, desacelera a perda de massa corporal.

A medula espinhal é a indutora da contração musculoesquelética. Através de estímulos nervosos ela incita os músculos a manterem sua integridade morfofuncional. Ao ocorrer a desnervação, esta estimulação é interrompida gerando

a hipotrofia muscular (CANCELLIERO et al. 2005, DURIGAN et al. 2006, FERREIRA et al. 2004, JACKMAN; KANDARIAN 2004, MACHADO et al. 2009, MINAMOTO 2005).

Em humanos, a hipotrofia musculoesquelética desencadeada durante as fases aguda e secundária da lesão medular pode atingir cerca de 15% do volume total de massa magra. Conforme ocorre a cronificação da patologia, essa perda progressiva da musculatura pode alcançar 41% (CASTRO et al. 1999, CASTRO et al. 2000). Estudos crônicos em humanos tem demonstrado que ocorrem modificações adversas na composição corporal de indivíduos lesados medulares, dentre elas, incluem-se as alterações estruturais dos músculos esqueléticos e, conseqüentemente, disfunções metabólicas decorrentes da desta desordem estrutural (AZEVEDO 2015; BAUMAN & SPUNGEN 2000; SEZER, AKKUS & UĞURLU 2015).

Na figura 18 pode-se observar a comparação realizada entre o peso úmido do músculo sóleo dos animais controle e operados. Estas análises demonstraram que os animais operados apresentaram resultados cerca de 6 à 11% menores quando comparados aos animais controle, independente do protocolo de exercício físico empregado anteriormente a cirurgia. Estes dados são indícios da intrínseca relação estabelecida entre a injúria espinal e hipotrofia musculoesquelética, visto que todos os grupos lesados medulares apresentaram diminuição da massa muscular após a lesão (GORGEY & DUDLEY 2007; LIU, BOSE, WALTER, THOMPSON & VANDENBORNE 2008).

Corroborando com o panorama supra citado, nas fotomicrografia das miofibras observa-se o aparente adensamento dos envoltórios conjuntivos (FIGURA 22B). Esta alteração é frequentemente observada nos músculos em desuso, que sugerem processo de fibrose muscular (CANCELLIERO, ALBERTO, ROBERTO, & GUIRRO, 2005). Naturalmente, músculos que sofrem desuso apresentam significativo prejuízo na funcionalidade muscular e paralelamente, intensa proliferação de tecido conjuntivo. O acréscimo de tecido conjuntivo altera a densidade do músculo, formando uma barreira física que dificulta o aporte sanguíneo para as miofibras, gerando a redução de capilares sanguíneos e, conseqüentemente, hipotrofia (BOSI et al., 2008; CANCELLIERO, ALBERTO, ROBERTO, & GUIRRO, 2005; DURIGAN et al., 2006; JACKMAN & KANDARIAN, 2004; JÄRVINEN et al., 2002).

Outra observação que justifica o estabelecimento hipotrófico musculoesquelético identificado nesta abordagem, é a propensão de músculos posteriores (como o tríceps sural) apresentarem quadro de hipotrofismo precoce. Igualmente, músculos extensores apresentam maiores taxas de perda muscular em relação à músculos flexores. Esta diferença de resposta muscular frente à lesão medular pode ser atribuída à maior atividade neuromuscular e à carga imposta aos os músculos extensores durante a ambulação normal dos animais (FERREIRA, R.; NEUPARTH, M. J.; ASCENSÃO, A.; et al. 2004). Como consequência à perda relativa da atividade neuromuscular após a lesão medular, pode-se identificar uma abrangente hipotrofia nos músculos extensores anti-gravitacionais, sendo os músculos sóleo e gastrocnêmio incluídos nesta categoria (PIEROTTI, ROY, GREGOR, & REGGIE EDGERTON, 1989; LIU, BOSE, WALTER, THOMPSON, & VANDENBORNE, 2008).

Em humanos, a hipotrofia musculoesquelética após a lesão medular, especificamente na fase aguda e secundária da fisiopatologia, pode atingir até 15% do volume total de massa magra e pode alcançar até 41% no decorrer de alguns meses (BICKEL, SLADE, HADDAD, ADAMS, & DUDLEY, 2003). Esta severa redução dimensional das fibras esqueléticas esta associada às modificações na composição corporal de pessoas com lesão medular. Estudos envolvendo lesões medulares crônicas têm correlacionado algumas disfunções metabólicas como consequências da perda de massa magra devido à imobilização, tais como a resistência insulínica e alterações lipídicas (BAUMAN & SPUNGEN, 2000; BICKEL, SLADE, HADDAD, ADAMS, & DUDLEY, 2003; BUCHHOLZ, MCGILLIVRAY, & PENCHARZ, 2003; CANCELLIERO, ALBERTO, ROBERTO, & GUIRRO, 2005; CASTRO et al., 2000; MAHONEY et al., 2005; MODLESKY et al., 2004; SEVERi & CANCELLIERO, 2007; SPUNGEN et al., 2003).

Seguindo o raciocínio que remete ao estabelecimento de uma condição hipotrófica, ao examinar os dados pertinentes ao diâmetro muscular (FIGURA 21) pode-se especular que o treinamento intenso causou uma depleção das proteínas intracelulares, visto que tanto o grupo CI (FIGURA 21A) quanto o grupo LI (FIGURA 21B) apresentaram baixos valores de AST muscular em relação aos seus respectivos controles, com decréscimo de 47% e 34% respectivamente. Corroborando com estes dados, a análise de AST de fibras musculares demonstraram que as fibras

pertencentes aos grupos exercitados intensamente possuíam diâmetro reduzido, cerca de 26 e 34% comparativamente aos grupos controle e operado.

É sabido que o músculo estriado esquelético é capaz de responder à diferentes esforços físicos através do aumento do número de fibras (hiperplasia) ou através do acréscimo intracelular de proteínas contráteis (hipertrofia). Inicialmente, os resultados do presente estudo sugerem que o exercício intenso provocou aparente hiperplasia nos músculos pertencentes aos grupos CI e LI em relação aos animais controle (FIGURA 23), embora tenha reduzido a AST das fibras (FIGURA 21). Visto que o músculo esquelético possui pouca capacidade proliferativa, o desenvolvimento da hiperplasia é pouco provável (AH JÄRVINEN, JÄRVINEN, KALIMO & JÄRVINEN 2013; JÄRVINEN, KÄÄRIÄINEN, JÄRVINEN & KALIMO, 2000). Ademais, os valores dispostos na tabela 1 demonstram a normalização desses dados, onde constatou-se que o número estimado de fibras totais dos grupos CI e LI não são estatisticamente diferentes. Já o resultado referente a diminuição da AST das fibras musculares do grupo CI (cerca de 47% menores em comparação ao grupo C) é oposto aos dados encontrados na literatura.

Atualmente, alguns estudos tem relatado os benefícios dos exercícios intervalados de alta intensidade, destacando-se melhorias em doenças cardíacas (FERGAL et al., 2017), diabetes do tipo 2 (MALLARD, MARTEHOLLEKIM-STRAND, COOMBES, & INGUL, 2017), ganho de massa muscular (SEYNNES, BOER, & NARICI, 2007), entre outros. Contudo, as particularidades do desenho experimental do presente estudo, bem como o protocolo de exercício nele utilizado, limitaram as justificativas para os baixos valores da AST do grupo CI. Assim sendo, suspeita-se que os resultados demonstrados na figura 21 refletem alguns dos feitos deletérios resultantes do treinamento intenso excessivo.

Exercícios de alta intensidade estimulam a síntese proteica como resposta fisiológica para atender a exigência imposta sobre o músculo (GIBALA & MCGEE 2008). Assim sendo, programas de treinamento são capazes de gerar modificações fenotípicas específicas nas fibras musculares (SIU, DONLEY, BRYNER & ALWAY 2004). Entretanto, as fibras musculares apresentam um limiar de intensidade de resposta, que é diretamente proporcional a disponibilidade de elementos intracelulares responsivos à contração muscular (BOGDANIS 2012). Quando o intervalo de recuperação, o volume ou a intensidade do treinamento são inadequados,

o exercício pode provocar várias alterações fisiológicas e hormonais no organismo, como elevação do catabolismo e alterações nas fibras musculares (SOUZA et al., 2011). Os achados da figura 21 vão de encontro com os resultados demonstrados por Souza e colaboradores (2011), onde foi constatado a diminuição da AST das fibras musculares que constituíam o músculo *plantaris* após a aplicação de um treinamento físico excessivo (SOUZA et al., 2011). Outro efeito do treinamento excessivo foi apresentado através das pesquisas de Seene e colaboradores (1999), que verificaram a diminuição do número de células satélites nos músculos de animais exercitados excessivamente (SEENE et al., 1999). Com a redução de células satélites, a adição de mionúcleos às miofibras após uma lesão muscular é comprometida e pode favorecer o desenvolvimento da hipotrofia. Estes dados podem justificar a presença de material fibroso no epimísio muscular dos animais CI (FIGURA 22E), considerando que na ausência regeneração muscular ocorre a formação de tecido cicatricial (KARALAKI, FILI, PHILIPPOU, & KOUTSILIERIS, 2009; LAUMONIER & MENETREY, 2016).

De modo semelhante, os animais do grupo LI possuíam miofibras com diâmetro cerca de 34% menor em comparação ao grupo L (FIGURA 19B). Adicionalmente, a figura 22F exibe a distribuição anormal de fibras colágenas nas regiões do epimísio e endomísio dos animais LI. A paralisação de um membro acarreta consequências deletérias ao tecido muscular, tais como a perda de sarcômeros em série, aumento do tecido conjuntivo e redução da AST das fibras musculares (COUTINHO 2006). As alterações no tecido conjuntivo intramuscular relacionadas ao processo de paralisia são geradas por uma modificação na síntese e degradação de proteínas e colágeno (CANCELLIERO, ALBERTO, ROBERTO & GUIRRO, 2005; COUTINHO 2006). Pesquisas realizadas por Ahtikoski e sua equipe (2001 e 2003) mostraram que, em condições normais, nos músculos de ratos ocorre a reorganização de colágeno, sendo esta taxa equivalente à 1,3% ao dia, ao passo que a taxa de síntese proteica é de 11,8%. Sob uma condição de imobilização, ocorre o aumento da degradação de proteínas musculares acompanhado da elevação proporcional da síntese de tecido conjuntivo intramuscular desorganizado. Como consequência, observa-se a redução da flexibilidade muscular e capacidade funcional (AHTIKOSKI

et al., 2003; AHTIKOSKI, KOSKINEN, VIRTANEN, KOVANEN, & TAKALA, 2001).

Os resultados obtidos pelos animais do grupo CM apresentaram um aumento de 10% da AST das fibras musculares (FIGURA 19A). Esses dados podem ser justificados através do tipo de fibra que compõem o musculo sóleo e o tipo de exercício realizado. Este músculo é composto majoritariamente por fibras do tipo 1 (lentas e de metabolismo oxidativo) e o treinamento moderado realizado é do tipo “*endurance*”. Os exercícios do tipo “*endurance*” provocam aumento da síntese de proteínas contráteis, além de aumentar a biogênese mitocondrial, a concentração de mioglobina, melhorar a oxigenação, tornar a oxidação do glicogênio mais eficiente e, desta forma, conduzem ao aumento do diâmetro da fibra muscular tipo 1 (7% e 22%) com esse tipo de treinamento (COFFEY & HAWLEY, 2007; FLÜCK, 2006; JESUS & SANTOS, 2014; KOURTIDOU-PAPADELI et al., 2004). Apesar dos resultados supracitados, o grupo CM apresentou similaridade ao grupo C nos parâmetros referentes a massa corporal (FIGURA 17), peso muscular úmido (FIGURA 18) e diâmetro muscular (FIGURA 21A) em razão do tempo de treinamento. A cronificação do exercício físico promove mudanças morfológicas, funcionais e moleculares nas fibras musculoesqueléticas (ABREU, LEAL-CARDOSO, & CECCATTO, 2017; BICKEL, SLADE, HADDAD, ADAMS, & DUDLEY, 2003; MAHONEY et al., 2005) e são externalizadas através de características fenotípicas, dentre as quais a hipertrofia é incluída (COFFEY & HAWLEY, 2007; YANG, CREER, JEMIOLO, & TRAPPE, 2005).

Comparativamente ao grupo CM, o grupo operado LM apresentou redução do peso muscular úmido (FIGURA 18) e da AST das fibras musculares (FIGURA 19B) em razão da lesão medular. Embora tais resultados sugerem que o exercício moderado realizado previamente a cirurgia não seja capaz de evitar a hipotrofia musculoesquelética após a lesão medular, a comparação entre os resultados histológicos dos grupos L e LM (Figura 22B e 22D) demonstram que em apenas 7 dias após a contusão medular o grupo L já apresentou infiltração de tecido adiposo intramuscular. Já nas miofibras dos animais LM, apesar da redução do diâmetro, não foi observado a presença de tecido adiposo ou fibras colágenas. A modificação da composição corporal após a lesão medular é a principal causa de comorbidades metabólicas, sendo associada a doenças como diabetes do tipo 2 (ELDER, APPLE,

BICKEL, MEYER, & DUDLEY, 2004), resistência insulínica (MAHONEY et al., 2005) e obesidade (SEZER, AKKUŞ, & UĞURLU, 2015).

Infelizmente, a hipotrofia proveniente da lesão medular ainda representa um desafio nos aspectos de tratamento e prevenção. Contudo, os resultados abordados no presente estudo sugerem que através do exercício físico é possível reduzir os sintomas e comorbidades associadas ao estado hipotrófico. Diferentemente dos animais lesados sedentários, grupos LM e LI não apresentaram gordura intramuscular após a lesão medular. Outro benefício encontrado foi que, mesmo com a redução da AST da fibra muscular e formação de tecido fibrótico (colégeno), o grupo LI não apresentou diferenças significativas quanto ao número de fibras em relação ao grupo CI.

8 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, podemos concluir que:

- I) A lesão medular participa de maneira direta e contundente no processo de hipotrofia muscular pós-lesão, induzindo redução na área de secção transversal de células e do músculo como um todo, reduzindo a funcionalidade musculoesquelética ;
- II) O exercício físico moderado impede a formação de gordura intramuscular após a lesão medular, propiciando uma estratégia de prevenção contra comorbidades vinculadas a hipotrofia;
- III) O protocolo e a intensidade do exercício, podem influenciar de maneira distinta o curso da hipotrofia desencadeada pela lesão medular.

Este dados em conjunto sugerem que a prática regular de exercícios físicos pode representar importante estratégia na prevenção da perda de funcionalidade muscular decorrente da hipotrofia. A lesão medular representa a forma mais contundente de desuso e hipotonicidade. Entranto, podemos sugerir que outras situações de imobilização temporária ou permanente, gerem processos similares aos estabelecidos na lesão medular. Desta forma, nossos resultados, podem incentivar a prática regular de exercícios físicos como ferramenta importante na promoção da funcionalidade muscular.

9 BIBLIOGRAFIA

- ABREU, P.; LEAL-CARDOSO, J. H.; CECCATTO, V. M. Adaptação do músculo esquelético ao exercício físico: considerações moleculares e energéticas. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 23, n. 1, p. 60–65, 2017.
- ABUL-KASIM, K. STRÖMBECK, A.; SUNDGREN, P. **Handbook of spinal cord injuries**. New York: Nova Science, 2010.
- ADRIAANSEN, J. E.; RUIJS, L. E. M.; VAN KOPPENHAGEN, C. F. Secondary health conditions and quality of life in persons living with spinal cord injury for at least ten years. **Journal of Rehabilitation Medicine**, v. 48, n. 10, p. 853–860, 2016.
- AGUIAR, A. F.; SOUZA, R. W. A.; VECHETTI, J.; AGUIAR, D.; AGUIAR, R. I. M. Creatine does not promote hypertrophy in skeletal muscle in supplemented compared with nonsupplemented rats subjected to a similar workload. **Nutrition Research**, v. 31, n. 8, p. 652–657, 2011.
- AH JÄRVINEN, T.; JÄRVINEN, M.; KALIMO, H.; JÄRVINEN, T. Regeneration of injured skeletal muscle after the injury. **Muscles, Ligaments and Tendons Journal**, v. 3, n. 4, p. 337–345, 2013.
- AHTIKOSKI, A. M.; KOSKINEN, S. O. A.; VIRTANEN, P.; et al. Synthesis and degradation of type IV collagen in rat skeletal muscle during immobilization in shortened and lengthened positions. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 177, n. 4, p. 473–481, 2003.
- AHTIKOSKI, A. M.; KOSKINEN, S. O. A.; VIRTANEN, P.; KOVANEN, V.; TAKALA, T. E. S. Regulation of synthesis of fibrillar collagens in rat skeletal muscle during immobilization in shortened and lengthened positions. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 172, n. 2, p. 131–140, 2001.
- ALISTAIR R.MALLARD; SIRI MARTEHOLLEKIM-STRAND; JEFF S.COOMBES; CHARLOTTE B.INGUL. Exercise intensity, redox homeostasis and inflammation in type 2 diabetes mellitus. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 20, n. 10, p. 893–898, 2017.
- ALMEIDA, C.; FERREIRA, A.; FARIA, F. Lesões medulares não traumáticas - Caracterização da população de um Centro de Reabilitação. **Revista da Sociedade Portuguesa de Medicina Física e de Reabilitação**, v. 20, n. 1, 12. fev. 2013.

- ANDRADE, L. P. S.; JUNIOR, E. B. S.; MELO, E. V. M.; PEREIRA, C. U. Disfunções cardiovasculares em traumatismo raquimedular. **Arq. Bras. Neurocir**, v. 33, n. 4, p. 323–328, 2014.
- AZEVEDO, E. R. F. **SPASTICITY AND BODY COMPOSITION ASSESSMENTS IN INDIVIDUALS WITH CHRONIC SPINAL CORD INJURY**, 2015. Universidade Estadual de Campinas.
- BAAR, K.; NADER, G.; BODINE, S. Resistance exercise, muscle loading/unloading and the control of muscle mass. **Essays In Biochemistry**, v. 42, 2006.
- BASSO, D. M.; CHRISTOPHER, E. N.; HANSEN, B. . Biological Basis of Exercise-based Treatments: Spinal Cord Injury. **Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 3, p. S73–S77, 2011.
- BATTAGLINO, R. A.; LAZZARI, A. Spinal Cord Injury-Induced Osteoporosis: Pathogenesis and Emerging Therapies. **NIH- National Institute of Health**, v. 10, n. 4, p. 278–285, 2013.
- BAUMAN, W. A.; SPUNGEN, A. M. Metabolic changes in persons after spinal cord injury. **Physical medicine and rehabilitation clinics of North America**, v. 11, n. 1, p. 109–40, 2000.
- BAYS, H. E.; GONZÁLEZ-CAMPOY, J. M.; BRAY, G. A.; et al. Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity. **Expert Review of Cardiovascular Therapy**, v. 6, n. 3, p. 343–368, 2008.
- BAZGIR, B.; MOHAMMADI, M. T.; SOBHANI, V.; SHAKIBAEI, A. The effect of high intensity interval training on cardioprotection against ischemia-reperfusion injury in wistar rats. **EXCLI Journal**, v. 14, p. 237–246, 2015.
- BERNE, R. M.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. **Berne and Levy: Physiology**. 6th ed. Rio de Janeiro: Mosby/Elsevier, 2010.
- BICKEL, C. S.; SLADE, J. M.; HADDAD, F.; ADAMS, G. R.; DUDLEY, G. A. Acute molecular responses of skeletal muscle to resistance exercise in able-bodied and spinal cord-injured subjects. **Journal of Applied Physiology**, 2003.
- BOFF, S. R. The muscle fiber and the factors that interfere with its phenotype. **Acta Fisiatrica**, v. 15, n. 2, p. 111–116, 2008.
- BOGDANIS, G. C. Effects of physical activity and inactivity on muscle fatigue. **Frontiers in physiology**, v. 3, p. 142, 2012.

- BOLAND, R. A.; LIN, C. S.-Y.; ENGEL, S.; KIERNAN, M. C. Adaptation of motor function after spinal cord injury: novel insights into spinal shock. **Brain**, v. 134, n. 2, p. 495–505, 2011.
- BOOTH, F. W. Physiologic and biochemical effects of immobilization on muscle. **Clinical orthopaedics and related research**, , n. 219, p. 15–20, 1987.
- BOOTH, F. W.; THOMASON, D. B. Molecular and cellular adaptation of muscle in response to exercise: perspectives of various models. **Physiological reviews**, v. 71, n. 2, p. 541–85, 1991.
- BOSI, P. L.; DELFINO, G. B.; DURIGAN, J. L. Q.; et al. Metformin Minimizes the Morphometric Alterations in the Soleus Muscle of Rats Submitted to Articular Immobilization. **Rev Bras Med Esporte**, v. 14, n. 5, p. 436–439, 2008.
- BRANDT, C.; PEDERSEN, B. K. The role of exercise-induced myokines in muscle homeostasis and the defense against chronic diseases. **BioMed Research International**, v. 2010, 2010.
- BRESNAHAN, J. C.; BEATTIE, M. S.; TODD, F. D.; NOYES, D. H. A behavioral and anatomical analysis of spinal cord injury produced by a feedback-controlled impaction device. **Experimental neurology**, v. 95, n. 3, p. 548–70, 1987.
- BRESNAHAN, J. C.; BEATTIE, M. S.; STOKES, B. T.; CONWAY, K. M. Three-Dimensional Computer-Assisted Analysis of Graded Contusion Lesions in the Spinal Cord of the Rat. **Journal of Neurotrauma**, v. 8, n. 2, p. 91–101, 1991.
- BUCHHOLZ, A. C.; MARTIN GINIS, K. A.; BRAY, S. R.; et al. Greater daily leisure time physical activity is associated with lower chronic disease risk in adults with spinal cord injury. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 34, n. 4, p. 640–647, 2009.
- BUCHHOLZ, A. C.; MCGILLIVRAY, C. F.; PENCHARZ, P. B. Differences in resting metabolic rate between paraplegic and able-bodied subjects are explained by differences in body composition. **The American journal of clinical nutrition**, v. 77, n. 2, p. 371–378, 2003.
- BUNGE, R. P.; PUCKETT, W. R.; BECERRA, J. L.; MARCILLO, A.; QUENCER, R. M. Observations on the pathology of human spinal cord injury. A review and classification of 22 new cases with details from a case of chronic cord compression with extensive focal demyelination. **Advances in neurology**, v. 59, p. 75–89, 1993.

- BURGOMASTER, K. A.; HOWARTH, K. R.; PHILLIPS, S. M.; et al. Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. **The Journal of Physiology**, v. 586, n. 1, p. 151–160, 2008.
- BURNHAM, R.; MARTIN, T.; STEIN, R. B.; et al. Skeletal muscle fibre type transformation following spinal cord injury. **Spinal cord**, v. 35, n. 2, p. 86–91, 1997.
- BYDON, M.; LIN, J.; MACKI, M.; GOKASLAN, Z. L.; BYDON, A. The current role of steroids in acute spinal cord injury. **World Neurosurgery**, v. 82, n. 5, p. 848–854, 2014.
- CANCELLIERO, K. M.; ALBERTO, C.; ROBERTO, R.; GUIRRO, D. J. Muscle Desuse Models and Neuromuscular Electrical Stimulation: Important Aspects to the Rehabilitation. , p. 53–62, 2005.
- CARVALHO, M. O. P. DE. Estudo da recuperação da função locomotora e histomorfométrico da lesão medular em ratos: efeitos da metilprednisolona e do gangliosídeo G (M1). , p. 136, 2007.
- CASPERSEN, C. J.; POWELL, K. E.; CHRISTENSON, G. M. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. **Public health reports (Washington, D.C. : 1974)**, v. 100, n. 2, p. 126–31, 1985.
- CASTRO, M. J.; APPLE, D. F.; HILLEGLASS, E. A.; DUDLEY, G. A. Influence of complete spinal cord injury on skeletal muscle cross-sectional area within the first 6 months of injury. **European journal of applied physiology and occupational physiology**, v. 80, n. 4, p. 373–8, 2000.
- CASTRO, M. J.; APPLE, D. F.; STARON, R. S.; CAMPOS, G. E.; DUDLEY, G. A. Influence of complete spinal cord injury on skeletal muscle within 6 mo of injury. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 86, n. 1, p. 350–8, 1999.
- CHAZAUD, B.; SONNET, C.; LAFUSTE, P.; et al. Satellite cells attract monocytes and use macrophages as a support to escape apoptosis and enhance muscle growth. **The Journal of Cell Biology**, v. 163, n. 5, p. 1133–1143, 2003.
- CHEN, R.; COHEN, L. G.; HALLETT, M. Nervous system reorganization following injury. **Neuroscience**, v. 111, n. 4, p. 761–773, 2002.
- CHODZKO-ZAJKO, W. J.; PROCTOR, D. N.; SINGH, M. A. F.; et al. Exercise and Physical Activity for Older Adults. **MEDICINE & SCIENCE IN SPORTS & EXERCISE**, p. 1510–1530, 2009.
- COFFEY, V. G.; HAWLEY, J. A. The molecular bases of training adaptation. **Sports medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 37, n. 9, p. 737–63, 2007.

- COUTINHO, E. L.; GOMES, A. R. S.; FRANÇA, C. N.; OISHI, J.; SALVINI, T. F. Effect of passive stretching on the immobilized soleus muscle fiber morphology. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, n. 12, p. 1853–1861, 2004.
- COUTINHO, E. L.; DELUCA, C.; SALVINI, T. F.; VIDAL, B. C. Bouts of Passive Stretching after Immobilization of the Rat Soleus Muscle Increase Collagen Macromolecular Organization and Muscle Fiber Area. **Connective Tissue Research**, v. 47, n. 5, p. 278–286, 2006.
- COX, A.; VARMA, A.; BANIK, N. Recent advances in the pharmacologic treatment of spinal cord injury. **Metabolic Brain Disease**, v. 30, n. 2, p. 473–482, 2015.
- DE SOUZA, F. I.; CRISTANTE, A. F.; MARCON, R. M.; et al. Transdermal monosialoganglioside with laser in the treatment of spinal cord lesion in rats. **Acta ortopedica brasileira**, v. 21, n. 2, p. 87–91, 2013
- DE SOUZA, R. W. A.; AGUIAR, A. F.; CARANI, F. R.; et al. High-Intensity Resistance Training with Insufficient Recovery Time Between Bouts Induce Atrophy and Alterations in Myosin Heavy Chain Content in Rat Skeletal Muscle. **The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology**, v. 294, n. 8, p. 1393–1400, 2011.
- DEL BEL, E. A.; SILVA, C. A. DA; MLADINIC, M. O trauma raquimedular. **Coluna/Columna**, v. 8, n. 4, p. 441–449, 2009.
- DEROON-CASSINI, T. A.; ST AUBIN, E.; VALVANO, A.; HASTINGS, J.; HORN, P. Psychological well-being after spinal cord injury: Perception of loss and meaning making. **Rehabilitation Psychology**, v. 54, n. 3, p. 306, 2009.
- DIMITRIJEVIC, M. R.; DSC, M. Development of neurophysiological aspects of the spinal cord during the past ten years. **Paraplegia**, v. 30, p. 92–95, 1992.
- DITUNNO, J. F.; LITTLE, J. W.; TESSLER, A.; BURNS, A. S. Spinal shock revisited: a four-phase model. **Spinal Cord**, v. 42, n. 7, p. 383–395, 2004.
- DORNELLES SCHOELLER, S.; MARTINI, A. C.; FORNER, S.; et al. **Abordagem Multiprofissional em Lesão Medular: Saúde, Direito e Tecnologia**. 1th ed. Florianópolis- SC: IFSC, 2016.
- DORNELLES SCHOELLER, S.; REGINA SCHUCH GRUMANN, A.; CADETE MARTINI, A.; et al. Knowing to care: characterization of individuals with spinal cord injury treated at a rehabilitation center. **Fisioter Mov**, v. 28, n. 1, p. 77–83, 2015.

- DUMONT, R. J.; OKONKWO, D. O.; VERMA, S.; et al. Acute Spinal Cord Injury, Part I: Pathophysiologic Mechanisms. **Clinical Neuropharmacology**, v. 24, n. 5, 2001.
- DURIGAN, J. L. Q.; CANCELLIERO, L. M.; DIAS, C. K. N.; et al. Effects of Neuromuscular Electrical Stimulation on Rat Hind Limbs Immobilized for 15 Days: Metabolic. **Rev. bras. fisioter**, v. 10, n. 3, p. 297–302, 2006.
- ELDER, C. P.; APPLE, D. F.; BICKEL, C. S.; MEYER, R. A.; DUDLEY, G. A. Intramuscular fat and glucose tolerance after spinal cord injury – a cross-sectional study. **Spinal Cord**, v. 42, n. 12, p. 711–716, 2004.
- ERIKS-HOOGLAND, I.; DE GROOT, S.; POST, M.; VAN DER WOUDE, L. Correlation of shoulder range of motion limitations at discharge with limitations in activities and participation one year later in persons with spinal cord injury. **Journal of Rehabilitation Medicine**, v. 43, n. 3, p. 210–215, 2011.
- ERIKS-HOOGLAND, I. E.; HOEKSTRA, T.; DE GROOT, S.; et al. Trajectories of musculoskeletal shoulder pain after spinal cord injury: Identification and predictors. **The Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 37, n. 3, p. 288–298, 2014.
- ESER, P.; FROTZLER, A.; ZEHNDER, Y.; SCHIESSL, H.; DENOTH, J. Assessment of anthropometric, systemic, and lifestyle factors influencing bone status in the legs of spinal cord injured individuals. **Osteoporosis international**, v. 16, n. 1, p. 26–34, 2005.
- FEHLINGS, M. G.; WILSON, J. R.; CHO, N. Methylprednisolone for the Treatment of Acute Spinal Cord Injury. **Neurosurgery**, v. 61, p. 36–42, 2014.
- FERGAL, G.; PETER, H.; ADRIAN, D. E.; et al. High intensity interval training (HIIT) improves resting blood pressure, metabolic (MET) capacity and heart rate reserve without compromising cardiac function in sedentary aging men. **Experimental Gerontology**, 2017.
- FERREIRA, R.; NEUPARTH, M. J.; ASCENSÃO, A.; et al. Atrofia muscular esquelética. Modelos experimentais, manifestações teciduais e fisiopatologia. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, v. 4, n. 3, p. 94111, 2004.
- FIGLEY, S. A.; KHOSRAVI, R.; LEGASTO, J. M.; TSENG, Y.-F.; FEHLINGS, M. G. Characterization of Vascular Disruption and Blood–Spinal Cord Barrier Permeability following Traumatic Spinal Cord Injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 31, n. 6, p. 541–552, 2014.

FLÜCK, M. Functional, structural and molecular plasticity of mammalian skeletal muscle in response to exercise stimuli. **The Journal of experimental biology**, v. 209, n. Pt 12, p. 2239–48, 2006.

FORNER, S. **DOR NEUROPÁTICA APÓS LESÃO MEDULAR TRAUMÁTICA: O PAPEL DOS RECEPTORES ENDOTELINÉRGICOS ET A E ET B**, 2015. Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC.

FORNER, S.; ANDRADE, E. L.; MARTINI, A. C.; et al. Effects of kinin B1 and B2 receptor antagonists on overactive urinary bladder syndrome induced by spinal cord injury in rats. **British Journal of Pharmacology**, v. 167, n. 8, p. 1737–1752, 2012.

FRANÇA, I. S. X.; COURA, A. S.; FRANÇA, E. G.; BASILIO, N. V.; SOUTO, R. Qualidade de vida de adultos com lesão medular: um estudo com WHOQOL-bref. **Rev Esc Enferm USP**, v. 45, n. 6, p. 1364–71, 2011.

FURLAN, J. C. Global incidence and prevalence of traumatic spinal cord injury. **Can J Neurol Sci**, v. 40, p. 456–464, 2013.

GARBER, C. E.; BLISSMER, B.; DESCHENES, M. R.; et al. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 43, n. 7, p. 1334–59, 2011.

GEISLER, F. H.; DORSEY, F. C.; COLEMAN, W. P. Past and current clinical studies with GM-1 ganglioside in acute spinal cord injury. **Annals of emergency medicine**, v. 22, n. 6, p. 1041–1047, 1993.

GIBALA, M. J.; MCGEE, S. L. Metabolic Adaptations to Short-term High-Intensity Interval Training. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 36, n. 2, p. 58–63, 2008.

GILLISON, F. B.; SKEVINGTON, S. M.; SATO, A.; STANDAGE, M.; EVANGELIDOU, S. The effects of exercise interventions on quality of life in clinical and healthy populations; a meta-analysis. **Social Science & Medicine**, v. 68, n. 9, p. 1700–1710, 2009.

GORGEY, A. S.; DUDLEY, G. A. Skeletal muscle atrophy and increased intramuscular fat after incomplete spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 45, n. 4, p. 304–9, 2007.

GRABHER, P.; BLAIOTTA, C.; ASHBURNER, J.; FREUND, P. Relationship between brainstem neurodegeneration and clinical impairment in traumatic spinal cord injury. **NeuroImage: Clinical**, v. 15, p. 494–501, 2017.

- GROAH, S. L.; CHARLIFUE, S.; TATE, D.; et al. Spinal Cord Injury and Aging. **American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation**, v. 91, n. 1, p. 80–93, 2012.
- GRUNER, J. A. A Monitored Contusion Model of Spinal Cord Injury in the Rat. **Journal of Neurotrauma**, v. 9, n. 2, p. 123–128, 1992.
- GUIZAR-SAHAGUN, G.; GRIJALVA, I.; MADRAZO, I.; et al. Development of post-traumatic cysts in the spinal cord of rats-subjected to severe spinal cord contusion. **Surgical neurology**, v. 41, n. 3, p. 241–9, 1994.
- HAGEN, E. M. Acute complications of spinal cord injuries. **World journal of orthopedics**, v. 6, n. 1, p. 17–23, 2015.
- HASKELL, W. L.; LEE, I.; PATE, R. R.; et al. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. **Circulation**, v. 116, n. 9, p. 1081, 2007.
- HAWKE, T. J. .; GARRY, D. J. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. **J Appl Physiol.**, v. 91, n. 2, p. 534–51, 2001.
- HERRERA, N. M.; ZIMMERMAN, A. N.; DYKSTRA, D. D.; THOMPSON, L. V. Clenbuterol in the prevention of muscle atrophy: A study of hindlimb-unweighted rats. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 82, n. 7, p. 930–934, 2001.
- HOLLOWAY, T. M.; BLOEMBERG, D.; DA SILVA, M. L.; et al. High intensity interval and endurance training have opposing effects on markers of heart failure and cardiac remodeling in hypertensive rats. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, p. 1–16, 2015.
- HOLLOWAY, T. M.; BLOEMBERG, D.; DA SILVA, M. L.; et al. High intensity interval and endurance training are associated with divergent skeletal muscle adaptations in a rodent model of hypertension. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 308, p. 927–934, 2015.
- HOOD, M. S.; LITTLE, J. P.; TARNOPOLSKY, M. A.; MYSLIK, F.; GIBALA, M. J. Low-Volume Interval Training Improves Muscle Oxidative Capacity in Sedentary Adults. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 43, n. 10, p. 1849–1856, 2011.
- HORN, S. D.; SMOUT, R. J.; DEJONG, G.; et al. Association of various comorbidity measures with spinal cord injury rehabilitation outcomes. **Archives of physical medicine and rehabilitation**, v. 94, n. 4, p. S75–S86, 2013.

- HOU, S.; RABCHEVSKY, A. G.; HOU, S.; RABCHEVSKY, A. G. Autonomic Consequences of Spinal Cord Injury. **Comprehensive Physiology**, p. 1419–1453, 2014.
- HULSEBOSCH, C. E. Recent advances in pathophysiology and treatment of spinal cord injury. **Advances in Physiology Education**, v. 26, p. 238–255, 2002.
- HURLBERT, R. J. Methylprednisolone for acute spinal cord injury: an inappropriate standard of care. **J Neurosurg**, v. 93, p. 1–7, 2002.
- HUTCHINSON, K. J.; GÓMEZ-PINILLA, F.; CROWE, M. J.; YING, Z.; BASSO, D. M. Three exercise paradigms differentially improve sensory recovery after spinal cord contusion in rats. **Brain**, v. 127, n. 6, p. 1403–1414, 2004.
- HUTCHINSON, K. J.; LINDERMAN, J. K.; BASSO, D. M. Skeletal Muscle Adaptations Following Spinal Cord Contusion Injury in Rat and the Relationship to Locomotor Function: A Time Course Study. **Journal of Neurotrauma**, v. 18, n. 10, p. 1075–1089, 2001.
- JACKMAN, R. W.; KANDARIAN, S. C. The molecular basis of skeletal muscle atrophy. **American Journal of Physiology - Cell Physiology**, v. 287, n. 4, 2004.
- JÄRVINEN, T. A.; KÄÄRIÄINEN, M.; JÄRVINEN, M.; KALIMO, H. Muscle strain injuries. **Current opinion in rheumatology**, v. 12, n. 2, p. 155–61, 2000.
- JESUS, G. M. DE; SANTOS, A. Adaptações fisiológicas e morfológicas das mitocôndrias ao treinamento de Endurance. **Diálogos Possíveis**, v. 4, n. 1, 2014.
- JIANG, S.-D.; DAI, L.-Y.; JIANG, L.-S. Osteoporosis after spinal cord injury. **Osteoporosis International**, v. 17, n. 2, p. 180–192, 2006.
- JIANG, S.-D.; YANG, Y.-H.; CHEN, W.; JIANG, L.-S. Isolated osteoblasts from spinal cord-injured rats respond less to mechanical loading as compared with those from hindlimbimmobilized rats. **Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 36, n. 3, p. 220–224, 2014.
- JOZSA, L.; THÖRING, J.; JÄRVINEN, M.; et al. Quantitative alterations in intramuscular connective tissue following immobilization: an experimental study in the rat calf muscles. **Experimental and molecular pathology**, v. 49, n. 2, p. 267–78, 1988.
- JOZSA, L.; KANNUS, P.; THORING, J.; et al. The effect of tenotomy and immobilisation intramuscular connective tissue a morphometric and microscopic study in rat calf muscles. **J Bone Joint Surg [Br]**, v. 72, p. 293–7, 1990.

- KARALAKI, M.; FILI, S.; PHILIPPOU, A.; KOUTSILIERIS, M. Muscle regeneration: cellular and molecular events. **In vivo (Athens, Greece)**, v. 23, n. 5, p. 779–96, 2009.
- KARELIS, A. D.; ST-PIERRE, D. H.; CONUS, F.; RABASA-LHORET, R.; POEHLMAN, E. T. Metabolic and Body Composition Factors in Subgroups of Obesity: What Do We Know? **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 6, p. 2569–2575, 2004.
- KOURTIDOU-PAPADELI, C.; KYPAROS, A.; ALBANI, M.; et al. Electrophysiological, histochemical, and hormonal adaptation of rat muscle after prolonged hindlimb suspension. **Acta astronautica**, v. 54, n. 10, p. 737–47, 2004.
- KRASSIOUKOV, A. V; FURLAN, J. C.; FEHLINGS, M. G. Medical co-morbidities, secondary complications, and mortality in elderly with acute spinal cord injury. **Journal of neurotrauma**, v. 20, n. 4, p. 391–399, 2003
- KWON, B. Pathophysiology and pharmacologic treatment of acute spinal cord injury. **The Spine Journal**, v. 4, p. 451–464, 2004.
- KWON, B. K.; OXLAND, T. R.; TETZLAFF, W. Animal models used in spinal cord regeneration research. **Spine**, v. 27, n. 14, p. 1504–1510, 2002. LAUMONIER, T.; MENETREY, J. Muscle injuries and strategies for improving their repair. **Journal of experimental orthopaedics**, v. 3, n. 1, p. 15, 2016.
- LAVIS, T. D.; SCENZA, W. M.; BOCKENEK, W. L. Cardiovascular Health and Fitness in Persons with Spinal Cord Injury. **Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America**, v. 18, n. 2, p. 317–331, 2007.
- LEE, B. B.; CRIPPS, R. A.; FITZHARRIS, M.; WING, P. C. The global map for traumatic spinal cord injury epidemiology: update 2011, global incidence rate. **Spinal Cord**, 2014.
- LEECH, K. A.; KINNAIRD, C. R.; HOLLERAN, C. L.; KAHN, J.; HORNBY, T. G. Effects of Locomotor Exercise Intensity on Gait Performance in Individuals With Incomplete Spinal Cord Injury. **Physical Therapy**, v. 96, n. 12, p. 1919–1929, 2016.
- LIEBER, R. L. Skeletal Muscle Adaptation to Decreased Use. **Skeletal Muscle Structure, Function, and Plasticity**. 2th ed, p.183–226, 2009.
- LIEBER, R. L. **Skeletal muscle structure, function, and plasticity: the physiological basis of rehabilitation**. 2th ed. Philadelphia: Lippincott: Lippincott Williams and Wilkins, 2002.

- LIU, M.; BOSE, P.; WALTER, G. A; THOMPSON, F. J.; VANDENBORNE, K. A longitudinal study of skeletal muscle following spinal cord injury and locomotor training. **Spinal cord: the official journal of the International Medical Society of Paraplegia**, v. 46, n. 7, p. 488–493, 2008.
- LUNDY-EKMAN, L. **Neurociência Fundamentos para Reabilitação**. 3rd ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.
- MACHADO, J.; KRINSKI, K.; ELSANGEDY, H. M.; et al. Vias De Sinalização Intracelular Na Atrofia Muscular E No Treinamento Resistido. **Fisioterapia em Movimento**, v. 22, n. 3, p. 383–393, 2009.
- MAHONEY, E. T.; BICKEL, C. S.; ELDER, C.; et al. Changes in Skeletal Muscle Size and Glucose Tolerance With Electrically Stimulated Resistance Training in Subjects With Chronic Spinal Cord Injury. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 86, n. 7, p. 1502–1504, 2005.
- MARTINEZ, M.; DELIVET-MONGRAIN, H.; ROSSIGNOL, S. Treadmill training promotes spinal changes leading to locomotor recovery after partial spinal cord injury in cats. **Journal of neurophysiology**, v. 109, n. 12, p. 2909–22, 2013.
- MELONI, V. H. M. O papel da hiperplasia na hipertrofia do músculo esquelético. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 7, n. 1, p. 59–63, 2005.
- MERCIER, C.; JOBIN, J.; LÉPINE, C.; SIMARD, C. Effects of hindlimb suspension on contractile properties of young and old rat muscles and the impact of electrical stimulation on the recovery process. **Mechanisms of ageing and development**, v. 106, n. 3, p. 305–20, 1999.
- MICHELE BASSO, D.; HANSEN, C. N. Biological Basis of Exercise-based Treatments: Spinal Cord Injury. **PM&R**, v. 3, p. 73–77, 2011.
- MINAMOTO, V. B. Classificação e adaptações das fibras musculares : uma revisão. **Fisioterapia e Pesquisa**, v. 12, n. 3, p. 50–55, 2005.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Diretrizes de atenção à pessoa com lesão medular**. Brasília: MS, 2013.
- MODLESKY, C. M.; BICKEL, C. S.; SLADE, J. M.; et al. Assessment of skeletal muscle mass in men with spinal cord injury using dual-energy X-ray absorptiometry and magnetic resonance imaging. **Journal of Applied Physiology**, v. 96, n. 2, p. 561–565, 2004.

- NAKI, I. K.; RIBERTO, M.; MOREIRA, M. C. S.; BATTISTELLA, L. R. Is the use of computerized electrical stimulation associated with cycloergometrics in individuals with medullary lesion beneficial for the muscular parameters? **Acta Fisiátrica**, v. 18, n. 4, p. 211–216, 2011.
- NASCIMENTO, L. G.; SILVA, S. M. L. Benefits of physical activity on the system cardio respiratory as also in the quality of life for spinal cord injury: a review. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, , n. 13, p. 42–50, 2007.
- NETO, F. R.; GENTIL, P. Treinamento resistido como intervenção na reabilitação em pacientes com lesão medular : uma revisão de literatura. **Acta Fisiatr**, v. 18, n. 2, p. 91–96, 2011.
- NICASTRO, H.; SAVOLDELLI, R. D.; KATTAN, V.; COIMBRA, P.; FRANGELLA, V. S. Perfil antropométrico de indivíduos com lesão medular. **Rev Soc Bras Alim Nutr**, v. 33, n. 1, p. 73–87, 2008.
- NINDS. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Disponível em: <www.ninds.nih.gov/disorders/sci/sci.htm>.
- NORENBERG, D. The Pathology of Human Spinal Cord Injury: Defining the Problems. **Journal of Neurotrauma**, v. 21, p. 429–440, 2004.
- NSCICS - NATIONAL SPINAL CORD INJURY STATISTICAL CENTER. **Annual Reports Spinal Cord Injury Model Systems**. 2016.
- NUNES, D. M.; MORAIS, C. R.; FERREIRA, C. G. Fisiopatologia da lesão medular: uma revisão sobre os aspectos evolutivos da doença. **Getec**, v. 6, n. 13, p. 87–103, 2017.
- OWEN, N.; HEALY, G. N.; MATTHEWS, C. E.; DUNSTAN, D. W. Too much sitting: the population health science of sedentary behavior. **Exercise and sport sciences reviews**, v. 38, n. 3, p. 105–113, 2010.
- PEDERSEN, B. . The disease of physical inactivity—and the role of myokines in muscle–fat cross talk. **The Journal of physiology**, v. 587, n. 23, p. 5559–5568, 2009.
- PEDERSEN, B. K. Muscles and their myokines. **Journal of Experimental Biology**, v. 214, n. 2, 2010.
- PEZARAT CORREIA, P. **Aparelho Locomotor: Função Neuromuscular e Adaptações à Atividade Física - Volume 2**. 2th ed. Lisboa: MH, 2012.

- PIAO, M. S.; LEE, J.-K.; JANG, J.-W.; KIM, S.-H.; KIM, H.-S. A Mouse Model of Photochemically Induced Spinal Cord Injury. **J Korean Neurosurg Soc**, v. 46, p. 479–483, 2009.
- PICKELSIMER, E.; SHIROMA, E. J.; WILSON, D. A. Statewide Investigation of Medically Attended Adverse Health Conditions of Persons With Spinal Cord Injury. **Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 33, n. 3, p. 221–231, 2006.
- PIEROTTI, D. J.; ROY, R. R.; GREGOR, R. J.; REGGIE EDGERTON, V. Electromyographic activity of cat hindlimb flexors and extensors during locomotion at varying speeds and inclines. **Brain Research**, v. 481, n. 1, p. 57–66, 1989.
- POPOVICH, P. G.; JONES, T. B. Manipulating neuroinflammatory reactions in the injured spinal cord: back to basics. **Trends in pharmacological sciences**, v. 24, n. 1, p. 13–7, 2003.
- POSSAMAI, F.; SIEPKO, C. M.; ANDRÉ, E. S. Investigation of therapeutic exercise effects on peripheral nerve regeneration. **Acta Fisiatr**, v. 17, n. 4, p. 142–147, 2010.
- RANTANEN, J.; HURME, T.; LUKKA, R.; HEINO, J.; KALIMO, H. Satellite cell proliferation and expression of myogenin and desmin in regenerating skeletal muscle: evidence for two different populations of satellite cells. **Lab Invest**, v. 72, p. 341–344, 1995.
- ROBERTS, D.; LEE, W.; CUNEO, R. C.; et al. Longitudinal study of bone turnover after acute spinal cord injury. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 83, n. 2, p. 415–22, 1998.
- ROSSIGNOL, S.; BARRIÈRE, G.; ALLUIN, O.; FRIGON, A. Re-expression of Locomotor Function After Partial Spinal Cord Injury. **Physiology**, v. 24, n. 2, 2009.
- ROSSIGNOL, S. ; BARRIÈRE, G.; FRIGON, A.; et al. Plasticity of locomotor sensorimotor interactions after peripheral and/or spinal lesions. **Brain Research Reviews**, v. 57, n. 1, p. 228–240, 2008.
- ROSSIGNOL, S.; FRIGON, A.; BARRIÈRE, G.; et al. Spinal plasticity in the recovery of locomotion. **Progress in Brain Research**, v. 188, p. 229–241, 2011.
- SANDROW-FEINBERG, H. R.; HOULÉ, J. D. Exercise after spinal cord injury as an agent for neuroprotection, regeneration and rehabilitation. **Brain Research**, 2015.
- SANTOS, E. A.; ALVES, V. L. R.; RAMOS, S.; FRANGELLA, V. S. Analysis of the dietary habits and nutritional status of patients with spinal cord injury after nutritional intervention. **Acta Fisiátrica**, v. 21, n. 3, p. 121–131, 2014.

- SCHIAFFINO, S.; REGGIANI, C. Fiber Types in Mammalian Skeletal Muscles. **Physiological Reviews**, v. 91, n. 4, p. 1447–1531, 2011.
- SCHMIDT, O. I.; GAHR, R. H.; GOSSE, A.; HEYDE, C. E. ATLS(R) and damage control in spine trauma. **World journal of emergency surgery: WJES**, v. 4, p. 9, 2009. BioMed Central.
- SCHOELLER, S. D.; FIGUEIREDO, N. M. A.; MACHADO, W. C. A. Desafios cotidianos do sujeito tetraplégico. **Tratado de cuidados de enfermagem**. p.3158–3198, 2012. São Paulo: Roca.
- SEYNNES, O. R.; BOER, M. DE; NARICI, M. V. Early skeletal muscle hypertrophy and architectural changes in response to high-intensity resistance training. **Journal of Applied Physiology**, v. 102, n. 1, p. 368–373, 2007.
- SEZER, N.; AKKUŞ, S.; UĞURLU, F. G. Chronic complications of spinal cord injury. **World journal of orthopedics**, v. 6, n. 1, p. 24–33, 2015.
- SIDDIQUI, A. M.; KHAZAEI, M.; FEHLINGS, M. G. Translating mechanisms of neuroprotection, regeneration, and repair to treatment of spinal cord injury. **Progress in Brain Research**, v. 218, p. 15–54, 2015.
- SILVA, N. A.; SOUSA, N.; REIS, R. L.; SALGADO, A. J. From basics to clinical: A comprehensive review on spinal cord injury. **Progress in Neurobiology**, 2014.
- SILVA, R. C. S.; TIRAPEGUI, J.; PIRES, I. S. O.; RIBEIRO, S. M. L. Estudo controlado da influência da atividade física em fatores de risco para doenças crônicas em indivíduos lesados medulares paraplégicos do sexo masculino. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 18, n. 2, p. 169–177, 2004.
- SILVERTHORN, D. U. **Fisiologia Humana - Uma Abordagem Integrada**. 5th ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- SIU, P. M.; DONLEY, D. A.; BRYNER, R. W.; ALWAY, S. E. Myogenin and oxidative enzyme gene expression levels are elevated in rat soleus muscles after endurance training. **J Appl Physiol**, v. 97, p. 277–285, 2004. SPUNGEN, A. M.; ADKINS, R. H.; STEWART, C. A.; et al. Factors influencing body composition in persons with spinal cord injury: a cross-sectional study. **Journal of Applied Physiology**, v. 95, n. 6, 2003.
- TALANIAN, J. L.; GALLOWAY, S. D. R.; HEIGENHAUSER, G. J. F.; BONEN, A.; SPRIET, L. L. Two weeks of high-intensity aerobic interval training increases the capacity for fat oxidation during exercise in women. **J Appl Physiol**, v. 102, p. 1439–1447, 2007.

TANHOFFER, A. I. P. **EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE PEIXE SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS E IMUNITÁRIOS EM PESSOAS COM LESÃO MEDULAR ATIVAS E SEDENTÁRIAS**, 2016. Universidade Federal Do Paraná.

TANHOFFER, R. A.; TANHOFFER, A. I. P.; RAYMOND, J.; HILLS, A. P.; DAVIS, G. . Exercise, Energy Expenditure, and Body Composition in People with Spinal Cord Injury. **Journal of Physical Activity and Health**, v. 11, n. 7, p. 1393–1400, 2014.

TANHOFFER, R. A.; YAMAZAKI, R. K.; NUNES, E. A.; et al. Glutamine concentration and immune response of spinal cord-injured rats. **The journal of spinal cord medicine**, v. 30, n. 2, p. 140–146, 2007.

THOMPSON, L. V; JOHNSON, S. A.; SHOEMAN, J. A. Single soleus muscle fiber function after hindlimb unweighting in adult and aged rats. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 84, n. 6, p. 1937–42, 1998.

THURET, S.; MOON, L. D. F.; GAGE, F. H. Therapeutic interventions after spinal cord injury. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 7, n. 8, p. 628–643, 2006.

UMPHRED, D. **Reabilitação Neurológica**. 5th ed. São Paulo: Elsevier Health Sciences Brazil, 2011. VAN DER VELDEN, M. W. A.; RINGBURG, A. N.; BERGS, E. A.; et al. Prehospital interventions: time wasted or time saved? An observational cohort study of management in initial trauma care. **Emergency Medicine Journal**, v. 25, n. 7, p. 444–449, 2008.

VARMA, A. K.; DAS, A.; WALLACE, G.; et al. Spinal Cord Injury: A Review of Current Therapy, Future Treatments, and Basic Science Frontiers. **Neurochemical Research**, v. 38, n. 5, p. 895–905, 2013.

WILLIAMS, P. E.; CATANESE, T.; LUCEY, E. G.; GOLDSPINK, G. The importance of stretch and contractile activity in the prevention of connective tissue accumulation in muscle. **Journal of anatomy**, v. 158, p. 109–14, 1988.

WILMET, E.; ISMAIL, A. A.; HEILPORN, A.; WELRAEDS, D.; BERGMANN, P. Longitudinal study of the bone mineral content and of soft tissue composition after spinal cord section. **Paraplegia**, v. 33, n. 11, p. 674–677, 1995.

WILSON, J. R.; FORGIONE, N.; FEHLINGS, M. G. Emerging therapies for acute traumatic spinal cord injury. **CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne**, v. 185, n. 6, p. 485–92, 2013.

YANG, Y.; CREER, A.; JEMIOLO, B.; TRAPPE, S. Time course of myogenic and metabolic gene expression in response to acute exercise in human skeletal muscle.

Journal of Applied Physiology, v. 98, n. 5, p. 1745–1752, 2005

YARROW, J. F.; YE, F.; BALAEZ, A.; et al. Bone loss in a new rodent model combining spinal cord injury and cast immobilization. **Journal of Musculoskeletal Neuronal**

Interactions, v. 14, n. 3, p. 255–266, 2014.

YE, F.; BALIGAND, C.; KEENER, J. E.; et al. Hindlimb muscle morphology and function in a new atrophy model combining spinal cord injury and cast immobilization.

J Neurotrauma, v. 30, n. 3, p. 227–235, 2013.

YOUNG, W. Medical treatments of acute spinal cord injury. **Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry**, v. 55, n. 8, p. 635–9, 1992.

ANEXO 1



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Comissão de Ética no Uso de Animais
(CEUA)



Nº 979

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA/BIO – UFPR), instituída pela Resolução Nº 86/11 do Conselho de Ensino Pesquisa e Extensão (CEPE), de 22 de dezembro de 2011, **CERTIFICA** que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA) estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais para a experimentação animal.

STATEMENT

The Ethics Committee for Animal Use from the Biological Sciences Section of the Federal University of Paraná (CEUA/BIO – UFPR), established by the Resolution Nº 86/11 of the Teaching Research and Extension Council (CEPE) on December 22nd 2011, **CERTIFIES** that the procedures using animals in the research project specified below are in agreement with the Brazilian Guidelines for Care and Use of Animals for Scientific and Teaching purposes established by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and with the international guidelines for animal experimentation.

PROCESSO/PROCESS: 23075.126411/2016-21

APROVADO/APPROVAL: 07/06/2016 – R.O. 05/2016

TÍTULO: Administração intratecal de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 utilizando solução hidrogel a base de ácido hialurônico e metilcelulose

TITLE: Intrathecal administration of omega-3 polyunsaturated fatty acids using as hyaluronic acid and methylcellulose

AUTORES/AUTHORS: Luiz Cláudio Fernandes, Stephanie Rubianne Silva Carvalho, Ricardo Antonio Tanhoffer

DEPARTAMENTO/DEPARTMENT: Fisiologia

Profa. Dra. Ana Vitória Fischer da Silva
Coordenadora da CEUA